



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ



ΕΘΝΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΕΡΕΥΝΩΝ
ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ, ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΔΙΔΡΥΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΒΙΟΕΠΙΧΕΙΡΕΙΝ



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Κατασκευή αντιφλεγμονώδους και αναλγητικού
αυτοκόλλητου επιθέματος με βάση βιοδραστικές ενώσεις του φυτού
Hypericum perforatum- Διερεύνηση ελληνικής αγοράς.

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ/ΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ/ΤΡΙΑ: ΣΚΑΜΝΑΚΗ ΒΑΣΙΛΙΚΗ, ΛΕΚΤΟΡΑΣ

ΣΤΕΡΓΙΟΣ ΆΓΓΕΛΟΣ
00053
ΑΘΗΝΑ, 2019



UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY



NATIONAL HELLENIC RESEARCH FOUNDATION
INSTITUTE OF BIOLOGY, MEDICINAL CHEMISTRY & BIOTECHNOLOGY

INTERSTITUTIONAL PROGRAM OF POSTGRADUATE STUDIES IN BIOENTREPRENEURSHIP



MASTER THESIS

**The manufacturing of anti-inflammatory and analgesic adhesive patch
based on bioactive compounds of the *Hypericum perforatum* plant - Greek
Market Analysis**

SUPERVISOR: SKAMNAKI VASILIKI, LECTURER

**STERGIOS ANGELOS
00053
ATHENS, 2019**

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο σπουδών
για την απόκτηση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης στο

ΒΙΟΕΠΙΧΕΙΡΕΙΝ

που απονέμει το Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, σε συνεργασία με *χώρος
εκπόνησης της διπλωματικής εργασίας* (αν υπάρχει).

Εγκρίθηκε την 01/03/ 2019 από την τριμελή εξεταστική
επιτροπή:

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ	ΒΑΘΜΙΔΑ	ΥΠΟΓΡΑΦΗ
Σκαμνάκη Βασιλική	Λέκτορας	
Ζουμπουλάκης Παναγιώτης	Ερευνητής Β	
Παπαδημητρίου Βασιλική	Ερευνητής Β	

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα μου, Σκαμνάκη Βασιλική, για την καθοδήγηση, τις εύστοχες παρατηρήσεις και την άψογη συνεργασία μας. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την εταιρία ErigenFocus και συγκεκριμένα την κυρία Ρογκάκου Εμμανουέλα, για το ενδιαφέρον θέμα που μου ανέθεσε.

(Σελίδα για αφιέρωση – προαιρετικά)

Πίνακας περιεχομένων

A.ΠΕΡΙΛΗΨΗ	5
B.ΛΕΞΕΙΣ-ΚΛΕΙΔΙΑ:	5
Γ.Σκοπός	6
Δ.Βιολογικό Μέρος	7
1.Βοτανική περιγραφή - Οικολογία	7
2.Ιστορική αναδρομή	9
3.Χημική σύσταση	11
Μέθοδοι απομόνωσης και χαρακτηρισμού ενώσεων	17
4.Φλεγμονή και Άλγος	19
Φλεγμονή	19
Άλγος	23
Κατηγορίες αντιφλεγμονώδη φαρμάκων	26
5.Δραστικές ενώσεις Hypericum perforatum – Αξιολόγηση αποτελεσμάτων	29
Φλεγμονή	29
Άλγος	32
6.Δέρμα και διείσδυση φαρμάκου	33
Σύστημα διαδερμικής μεταφοράς ουσιών	34
Βασικά συστατικά διαδερμικού επιθέματος	36
Κατηγορίες διαδερμικών επιθεμάτων	40
Ασφάλεια διαδερμικής χορήγησης	43
E.Διερεύνηση Αγοράς	44
1.Περιγραφή προϊόντος	44
2.Η Αγορά	44
3.Ανάλυση Ανταγωνισμού	46
Άμεσος Ανταγωνισμός	46
Έμμεσος ανταγωνισμός	47
Z.Συμπεράσματα- Μελλοντικά βήματα	52
Βιβλιογραφία	53

A. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα διπλωματική εργασία προσανατολίζεται στην κατασκευή ενός αντιφλεγμονώδους και αναλγητικού αυτοκόλλητου επιθέματος που θα συμβάλλει στη μείωση την φλεγμονής και την ανακούφιση από τον πόνο, με βιοδραστικές ενώσεις από το φυτό *Hypericum perforatum*. Ήδη από την αρχαιότητα, υπάρχουν ποικίλες αναφορές για τις αντιφλεγμονώδεις και αναλγητικές ιδιότητες του *Hypericum perforatum*, ωστόσο τα τελευταία χρόνια εντείνονται οι έρευνες σχετικά με τις ευεργετικές ιδιότητες του. Βιοδραστικές ενώσεις, όπως η υπερικίνη και η υπερφορίνη, επιδρούν σημαντικά στη μείωση της φλεγμονής και του πόνου. Κυρία μόρια στόχοι των βιοδραστικών ενώσεων του φυτού οι COXs και iNOS, τα οποία συμμετέχουν στην εξέλιξη της φλεγμονώδους αντίδρασης. Επιπρόσθετα, περιγράφεται η ανατομία του δέρματος και τα χαρακτηριστικά ενός επιθέματος ώστε να κρίνουμε την δυνατότητα δημιουργίας του προϊόντος. Τέλος, πραγματοποιήθηκε ανασκόπηση της αγοράς και ανάλυση του ανταγωνισμού, στην οποία επιβεβαιώθηκε το κενό στην ελληνική αγορά σε αντιφλεγμονώδη επιθέματα από βιοδραστικές ενώσεις φυσικής προέλευσης.

B. ΛΕΞΕΙΣ-ΚΛΕΙΔΙΑ:

Hypericum perforatum, Φλεγμονή, Άλγος, Υπερικίνη, Υπερφορίνη

Γ. Σκοπός

Έχουν γίνει αναφορές, από την αρχαιότητα μέχρι σήμερα για τις ιδιότητες του *Hypericum perforatum* ως φαρμακευτικό φυτό για την αντιμετώπιση πολλών ασθενειών. Στο πλαίσιο των θεραπευτικών ιδιοτήτων του, το *Hypericum perforatum*, προσελκύει το επιστημονικό ενδιαφέρον, αναφορικά με τις αναλγητικές και αντιφλεγμονώδης βιοδραστικές ενώσεις του. Προσωπικές εμπειρίες μετεγχειρητικών ασθενών, έπειτα από τη χρήση του φυτού, ενισχύουν τις αναλγητικές και αντιφλεγμονώδη ιδιότητες του. Συνεπώς, η παρούσα μελέτη εξετάζει και αξιολογεί τη βιβλιογραφία σχετικά με τις ιδιότητες αυτές, προσανατολιζόμενη σε ένα ιατροτεχνολογικό κατασκεύασμα, ειδικότερα αυτοκόλλητο επίθεμα, που αναστέλλει τη φλεγμονή και την πρόκληση οιδήματος, προσφέροντας αίσθημα αναλγησίας στον ασθενή, χρησιμοποιώντας συγκεκριμένες βιοδραστικές ενώσεις που απομονώθηκαν από το *Hypericum perforatum*. Επίσης, σκοπός της μελέτης αποτελεί η ανασκόπηση της αγοράς και η ανάλυση του ανταγωνισμού σχετικά με τα προϊόντα διαδερμικής μεταφοράς, που κυκλοφορούν στην ελληνική φαρμακευτική αγορά, για την αντιμετώπισης της φλεγμονής και του πόνου.

Βιολογικό Μέρος

Βοτανική περιγραφή - Οικολογία

Το είδος *Hypericum perforatum* L. (ή John's wort) εντάσσεται στην οικογένεια των Clusiaceae (ή αλλιώς Guttiferae), με μερικούς, ωστόσο, να το ταξινομούν σε μια διαφορετική οικογένεια, των Hypericaceae. Ειδικότερα, ανήκει στο γένος *Hypericum*, το οποίο αποτελείται από περισσότερα από 400 είδη, παγκοσμίως. Χαρακτηριστικά συγγενικά είδη με το *Hypericum perforatum*, που συναντάμε, είναι το *Hypericum hisutum*, *Hypericum maculatum*, *Hypericum montanum*, *Hypericum barbatum* (Nohrstedt *et al.*, 1985).

Το *Hypericum perforatum* είναι ποώδες πολυετές φυτό και παρουσιάζει εκτεταμένα ριζώματα, με το ύψος του να φθάνει το 1μ.. Τα στελέχη του είναι όρθια και διακλαδίζονται καθώς κατευθυνόμαστε προς το άνω τμήμα του φυτού. Τα κιτρινοπράσινα φύλλα του είναι αντικριστά, άμισχα, στενά, επιμήκη με μήκος 1-2 εκ. και παρουσιάζουν στίγματα αδενικού ιστού (Zobayed *et al.*, 2006). Μάλιστα, η λατινική ονομασία του φυτού *Hypericum perforatum* προέρχεται από τα εμφανή στίγματα του φύλλου έπειτα από την έκθεση στο φως και την «διάτρητη» εμφάνιση αυτών. Παρατηρώντας τα άνθη του φυτού, θα διαπιστώσουμε ότι το μήκος τους δεν ξεπερνά τα 2.5 εκ., ενώ εμφανή είναι και τα πλατιά συμπλέγματα ανθέων κατά την ανοιξιιάτική και καλοκαιρινή περίοδο. Τα πέντε πέταλα του άνθους παρουσιάζουν το χαρακτηριστικό κίτρινο χρώμα με ευδιάκριτα μαύρα στίγματα, πλούσια σε έλαιο, χαρακτηριστικό το οποίο παρατηρείται και στα σέπαλα (Εικόνα 1). Τέλος, οι κόκκοι γύρης του είναι ελλειψοειδείς (Stace, 2010).

Το *Hypericum perforatum* αναπαράγεται αγενώς και εγγενώς και βλαστάνει στην Ευρώπη, την Ασία, τη Νότια Αφρική και την Αμερική. Περιβαλλοντικές και κλιματικές συνθήκες των περιοχών που φαίνεται να εμποδίζουν την ευδοκίμηση του *Hypericum perforatum* είναι: το χαμηλό επίπεδο βροχοπτώσεων, το υψόμετρο άνω των 1500 μ. και η μέση ημερησία θερμοκρασία Ιανουαρίου άνω των 24°C. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι, τα σπέρματα του φυτού χαρακτηρίζονται από τη δυνατότητα να παραμείνουν για χρόνια στο έδαφος και να εκβλαστάνουν έπειτα από μια διαταραχή, όπως φωτιά (Field *et al.*, 2000).



Εικόνα 1: Α. Άνθος *Hypericum perforatum*, Β. Σποριόφυτα *Hypericum perforatum*,
Γ. Καρπός *Hypericum perforatum*, Δ. Πλήρες φυτό *Hypericum perforatum*.

Ιστορική αναδρομή

Η ονομασία *Hypericum* προέρχεται είναι ελληνική από τη λέξη, υπέρικον. Μάλιστα, η διωνυμική ονομασία *Hypericum perforatum* δόθηκε το 1753 από τον Κάρολο Λινναίο. Το St. John's Wort (SJW) χαρακτηρίζεται ως ένα φαρμακευτικό φυτό που χρησιμοποιείται στην ιατρική για περισσότερα από 2.000 χρόνια, με ποικίλες αναφορές για τις ιδιότητες του από τον Ιπποκράτη, το Γαλιλαίο και το Διοσκουρίδη. Χρησιμοποιούνταν ως διουρητικό, στην επούλωση πληγών, σε εμμηνοπαυσιακές και εντερικές διαταραχές. Αποξηραμένα φύλλα τοποθετούνταν σε λάδι ελιάς, το οποίο λάμβανε ένα κόκκινο χρώμα, έπειτα από τρεις εβδομάδες. Οι Αρχαίοι πίστευαν ότι το φυτό διαθέτει «μαγικές» ιδιότητες, διότι συλλέγονταν για την προστασία από τους δαίμονες και τα αρνητικά πνεύματα. Σύμφωνα με ένα μύθο, οι μαγικές αυτές ιδιότητες του φυτού αποκτούνταν, έπειτα από θείσμο αυτού στη ημέρα εορτής του Αγίου Ιωάννη (24 Ιουνίου), που συμβαδίζει με την εποχή της άνθισης του. Ένας άλλος παραθέτει ότι το φυτό απελευθέρωνε το κόκκινο έλαιο του στις 29 Αυγούστου, ημέρα εορτασμού του αποκεφαλισμού του Αγίου Ιωάννη (Klemow *et al.*, 2011).

Κατά το Μεσαίωνα, το *Hypericum perforatum* συνεχίστηκε να χρησιμοποιείται για τις θεραπευτικές του ιδιότητες. Ειδικότερα, οι Παράκελσος, Gerard και Culpeper συνιστούσαν το *Hypericum perforatum* για τη θεραπεία των πληγών και την απαλοιφή του πόνου. Το 1525 ο Παράκελσος το σύστησε για τη θεραπεία της κατάθλιψης και της μελαγχολίας. Η παρουσία St. John's wort ως φαρμακευτικό φυτό συνεχίστηκε στην Ευρώπη, καθώς εξαπλώθηκε και σε άλλες χώρες κατά τον 18^ο και 19^ο αιώνα. Χρησιμοποιούνταν ως ρόφημα ή σε βάμμα, για τη θεραπεία του άγχους, της κατάθλιψης, της αϋπνίας, την κατακράτηση υγρών και τη γαστρίτιδα. Με το πέρασμα των χρόνων, το έλαιο από το φυτό χρησιμοποιείται για τη θεραπεία των αιμορροΐδων και της φλεγμονής, ενώ άλλοι το χρησιμοποιούν για την θεραπεία των πληγών και των εγκαυμάτων, ειδικότερα σε σημεία που εμπλέκεται με την καταστροφή νεύρων (Klemow *et al.*, 2011). Από τα μέσα της δεκαετίας του 20^{ου} αιώνα, διατίθεται εμπορικά και το 1984, η Γερμανική Επιτροπή συνέστησε τη χρήση του για την αντιμετώπιση ψυχικών διαταραχών, κατάθλιψης, άγχους και νευρικές εξάψεις.

Τα τελευταία χρόνια, τα φαρμακευτικά προϊόντα που περιέχουν *Hypericum perforatum* ανήκουν στα πιο δημοφιλή φαρμακευτικά παρασκευάσματα. Θεωρείται ως μια ιδανική φαρμακευτική προσέγγιση, λόγω των ελάχιστων παρενεργειών, για την αντιμετώπιση της κατάθλιψης με πλήθος κλινικών ερευνών να υποστηρίζουν τις

θεραπευτικές του ιδιότητες. Γίνονται προσπάθειες για την αξιοποίηση του ως αναλγητικό, αντιφλεγμονώδες, αντικαρκινικό, αντιρετροϊκό, την επούλωση πληγών και των εμμηνοπαυσιακών διαταραχών, και παρόλο τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα, οι έρευνες αυτές βρίσκονται ακόμα σε πρώιμο στάδιο.

Χημική σύσταση

Πριν την παράθεση των χημικών ενώσεων που εντοπίζονται στο *Hypericum perforatum*, θα πρέπει να γίνει κατανοητό ότι ανάλογα με τις μεθόδους απομόνωσης, η συγκέντρωση των βιοδραστικών ενώσεων μπορεί να διαφέρει. Οι δραστικές ενώσεις μπορούν να απομονωθούν από ξηρό βότανο ή από εκχύλισμα βοτάνου. Ειδικότερα, το ξηρό βότανο, το οποίο περιέχει κυρίως άνθη, φύλλα και «κλειστά» μπουμπούκια, χρησιμοποιείται για φαρμακευτική χρήση και αναφέρεται ως *Hyperici Herba* (Field *et al.*, 2000). Το εκχύλισμα ελαίου από το φυτό *Hypericum perforatum*, *Oleum Hyperici*, μπορεί να αποκτηθεί έπειτα από μούλιασμα του ανθισμένου μέρους του φυτού σε φυτικά έλαια, όπως ελιάς και ηλιόσπορου για μερικές ημέρες, λαμβάνοντας έτσι ένα έντονο κόκκινο χρώμα (Zdunić *et al.*, 2009). Ενδιαφέρον αποτελεί το γεγονός, ότι το «ακατέργαστο» εκχύλισμα και το έλαιο περιέχουν ουσίες, που η συγκέντρωσή τους διαφέρουν σημαντικά, λόγω περιβαλλοντικών παραγόντων, τη χρονική στιγμή του θερισμού και τη διαδικασία που ακολουθείται με σκοπό την απόκτηση των βιοδραστικών ενώσεων (Patocka *et al.*, 2003)

Εννέα κατηγορίες βιοδραστικών φυσικών ενώσεων και περισσότερες από 150 διαφορετικές ενώσεις έχουν ταυτοποιηθεί από το *Hypericum perforatum*, οι οποίες παρουσιάζονται στον πίνακα 1 (Field *et al.*, 2000, Nohrstedt *et al.*, 1985). Αναφέρεται ότι οι βιοδραστικές ενώσεις αντιστοιχούν στο 15- 20% του φυτικού εκχυλίσματος (Barceloux *et al.*, 2008). Οι κατηγορίες ενώσεων που συναντάμε στο *Hypericum perforatum* είναι οι ναφθοδιανθρόνες, οι φλορογλουκινόλες, τα φλαβονοειδή, οι ταννίνες και οι προανθοκυανιδίνες, τα φαινυλοπροπάνια, οι ξανθόνες, τα πτητικά έλαια και τα αμινοξέα (αναλύονται παρακάτω).

Πίνακας 1: Κατηγορίες ενώσεων και περιεκτικότητα αυτών, που συναντάμε στο *Hypericum perforatum*.

Κατηγορίες ενώσεων	Περιεκτικότητα (%)*
Ναφθοδιανθρόνες	0,06- 0,4
Φλορογλουκινόλες	0,2- 4
Φλαβονοειδή	2- 4
Ταννίνες και Προανθοκυανιδίνες	6- 15
Φαινυλοπροπάνια	<1
Ξανθόνες	0,01
Πτητικά Έλαια	0,1- 0,25
Αμινοξέα	0,01
Άλλες ενώσεις	0,05

*οι τιμές αναφέρονται στην περιεκτικότητα των ενώσεων, έπειτα από ξήρανση των άνω τμημάτων του *Hypericum perforatum*.

Ναφθοδιανθρόνες

Οι ναφθοδιανθρόνες παρουσιάζουν μια περιορισμένη διαλυτότητα σε όλους σχεδόν τους διαλύτες, εκ των οποίων και στο νερό σε συνθήκες περιβάλλοντος. Αποτελούν χαρακτηριστική κατηγορία ενώσεων που συναντάμε στο *Hypericum perforatum* και σε αυτή ανήκουν η υπερικίνη και η ψευδοπερικίνη (Wolfe *et al.*, 2014).

Η υπερικίνη, χαρακτηριστική ένωση του γένους *Hypericum*, προσεγγίζει το ενδιαφέρον των επιστημών, λόγω του έντονο κόκκινου χρώματος που προσδίδει στο εκχύλισμα ελαίων και των φωτοτοξικών ιδιοτήτων της (Εικόνα 2). Η υπερικίνη είναι παράγωγο ανθρακίνης και παρουσιάζει αντικαταθλιπτική, πιθανή αντιϊκή, αντινεοπλασματική και ανοσοδιεγερτική δραστηριότητα (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Hypericum>). Τα πρώτα συστατικά που απομονώνονται από το φυτό είναι τα αποκαλούμενα πρωτοπαράγωγα, όπως η πρωτοπερικίνη, η οποία στη συνέχεια μετατρέπεται σε πιο σταθερές ενώσεις την υπερικίνη, με την παρουσία φωτός (Nohrstedt *et al.*, 1985).

Η ψευδοπερικίνη -μια αρωματική πολυκυκλική διόνη- μετατρέπεται από την

ψευδοπρωτουπερικίνη, στην πιο σταθερή της ένωση, με την παρουσία φωτός (Εικόνα 2). Η ψευδοπερικίνη, ειδικός αναστολέας πρωτεϊνικής κινάσης C, εντοπίζεται σε συγκεντρώσεις 2-4 φορές μεγαλύτερες από αυτές της υπερίκνης (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4978>). Πρόσφατα, ανιχνεύθηκε η κυκλοψευδοπερικίνη και χαρακτηρίστηκε ως ένα οξειδωτικό προϊόν της ψευδοπερικίνης (Nohrstedt *et al.*, 1985).



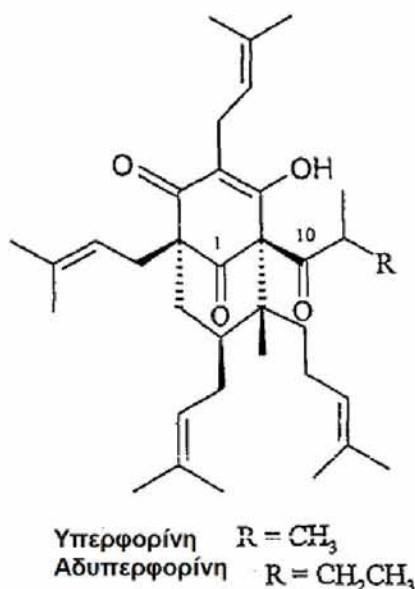
Εικόνα 2: Η χημική ένωση Υπερίκνη ($R=H$) και η Ψευδοπερικίνη ($R=OH$).

Φλορογλουκινόλες

Οι φλορογλουκινόλες παρουσιάζουν υψηλή λιποφιλικότητα. Στην κατηγορία ανήκουν η υπερφορίνη και η αδυπερφορίνη (Wolfle *et al.*, 2014).

Η υπερφορίνη -μια κυκλική κετόνη τερπενίου-εντοπίζεται σε μερικά από τα μέλη του φυτικού γένους *Hypericum*. Η υπερφορίνη δρα ως αναστολέας επαναπρόσληψης GABA και διαθέτει αντιφλεγμονώδη, αντικαταθλιπτική, αντιβακτηριακή και αντινεοπλασματική δράση (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>). Αυτή αποικοδομείται στις μη δραστικές ενώσεις (fyrhyperforin, oxyhyperforin) σε μέρες ή σε βδομάδες, ανάλογα με την παρουσία φωτός ή μη. Επομένως, πρόκειται για λιποφιλή, ασταθή στο φως και τη θερμότητα ένωση, που η σταθερότητα της μπορεί να αυξηθεί έπειτα από προσθήκη 2-octyldodecanol-1 στο έλαιο (Wolfle *et al.*, 2014). Η συγκέντρωση της αυξάνεται από τα άνθη, στους ανώριμους και στους ώριμους καρπούς, αντίστοιχα (Nohrstedt *et al.*, 1985).

Η αδυπερφορίνη διαφέρει από την υπερφορίνη καθώς εμπεριέχει ένα πρόσθετο μεθύλιο (Εικόνα 3). Η συνολική ποσότητα της αδυπερφορίνης αυξάνεται από τα άνθη, στους ανώριμους και ώριμους καρπούς. Εντοπίζεται σε ποσότητα 10 φορές μικρότερη από εκείνη της υπερφορίνης (Jensen *et al.*, 2001).



Εικόνα 3: Η χημική ένωση της Υπερφορίνης ($R = \text{CH}_3$) και της Αδυπερφορίνης ($R = \text{CH}_2\text{CH}_3$).

Φλαβονοειδή

Η ευρύτερη κατηγορία των φλαβονοειδών εντοπίζεται στο φυτό σε περιεκτικότητα 2- 4% της ξηρής μάζας του φυτού. Στην κατηγορία αυτή συναντάμε τις φλαβονόλες, τις φλαβόνες, τους γλυκοζίτες φλοβονοειδών και τα βιοφλαβονοειδή.

Στην κατηγορία των φλαβονολών ανήκει η κουερσετίνη και η καμπφερόλη. Η κουερσετίνη μια αγλυκόνη μορφή των γλυκοζιτών φλαβονοειδών, που εντοπίζεται σε πλήθος φυτών και φρούτων, παρουσιάζοντας μεταξύ των άλλων και αντιοξειδωτική δράση. Η καμπφερόλη είναι κίτρινη κρυσταλλικού χρώματος ουσία, το οποίο είναι ελαφρώς διαλυτό σε νερό. Εντοπίζεται σε αρκετά φυτά και καρπούς (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>).

Στις φλαβόνες ανήκει η λουτεολίνη, η οποία είναι ένα φυσικό φλαβονοειδές κίτρινου χρώματος, με πιθανές αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Εντοπίζεται σε φρούτα, φυτά και φαρμακευτικά βότανα, κυρίως στα φύλλα.

Στην κατηγορία των γλυκοζιτών φλαβονοειδών ανήκει η υπεροσίδη, η ισοκερκιτρίνη, η κερκιτρίνη και η ρουτίνη. Η υπεροσίδη είναι 3-O- γαλακτοζίτης κουερσιτρίνης και απομονώνεται από τα φυτά, έχοντας αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Η ισοκουερσετίνη -κουερσετίνη με ένα βήτα γλυκοζιδικό κατάλοιπο στη θέση 3- εντοπίζεται στα φυτά και χαρακτηρίζεται για την αντινεοπλασματική της δράση. Η κουερσιτρίνη -μια γλυκοζυλιομένη μορφή από κουερσετίνης με σάκχαρο ραμνόζη- δρα ως αντιοξειδωτικός και αντιλεϊσμνιακός παράγοντας. Τέλος, η ρουτίνη -ένας γλυκοζίτης φλαβονόλης- με ποικιλία από βιολογικές δράσεις, όπως αντιαλλεργικές, αντιφλεγμονώδεις, αντιπολλαπλασιαστικές και αντικαρκινικές ιδιότητες.

Στην κατηγορία βιοφλαβονοειδή ανήκουν η I3, I18 βιαπιγενίνη και η αμεντοφλαβόνη. Η I3,I18 βιαπιγενίνη, εντοπίζεται σε περιεκτικότητα 0.1- 0.5% στα άνθη και στα μπουμπούκια του φυτού, ενώ σε ίχνη στους καρπούς. Η αμεντοφλαβόνη -ένα διμερές απιγενίνης- εντοπίζεται σε περιεκτικότητα 0.01- 0.05% της ξηρής μάζας του *Hypericum perforatum*. Δρα ως αναστολέας καθεψίνης B, αντιικός παράγοντας, αναστολέας αγγειογένεσης, αναστολέας P450 και είναι φυτικός μεταβολίτης.

Ταννίνες και Προανθοκυανιδίνες

Οι ταννίνες εντοπίζονται ως ολιγομερείς προκυανιδίνες, με τις υψηλότερες τιμές περιεκτικότητας να υπάρχουν στο στάδιο της ανθοφορίας (Nohrstedt *et al.*, 1985). Έχουν χαρακτηριστεί και απομονωθεί η προκυανιδίνη B2, η κατεχίνη και η επικατεχίνη. Η προκυανιδίνη B2 είναι μια προανθοκυανιδίνη που αποτελείται από δυο μόρια επικατεχίνης ενωμένα με δεσμό β-διαμόρφωσης. Είναι φυτικός μεταβολίτης και έχει αντιοξειδωτική δράση. Η επικατεχίνη είναι ένα αντιοξειδωτικό φλαβονοειδές, που αποτελείται από πολυφαινόλη και κατεχίνη, εντοπίζεται στα ξυλώδη σημεία ενός φυτού.

Φαινυλπροπάνια

Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα φαινολικά παράγωγα και οι εστέρες κινναμωμικού οξέος, όπως το p-κουμαρικό, το καφεϊκό οξύ, το χλωρογενικό οξύ, το φερουλικό οξύ, το βανιλικό οξύ και το 4-υδροξυβενζοϊκό οξύ. Το π- κουμαρικό -ένα υδροξυ-παράγωγο κινναμωμικού οξέος- είναι κρυσταλλικό στερεό ελαφρώς διαλυτό στο νερό. Το καφεϊκό οξύ -ένα παράγωγο υδροξυ-κινναμωμικού οξέος και πολυφαινόλης- διαθέτει αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδη και αντινεοπλασματικές ιδιότητες. Το χλωρογενικό οξύ -ένας εστέρας καφεϊκού και κυνικού οξέος- έχει ανιχνευτεί σε

συγκεντρώσεις μικρότερες του 1% και έχει αντιοξειδωτική δράση. Το φερουλικό οξύ -ένα παράγωγο κινναμικού οξέος- έχει αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδη και καρδιοπροστατευτικές ιδιότητες. Το βανιλικό οξύ είναι μια ενδιάμεση φαινολική ένωση, που προκύπτει κατά τη μετατροπή της βανιλίνης σε φερουλικό οξύ. Είναι μεταβολικό παραπροϊόν καφεϊκού οξέος και αναστέλλει τη δράση της 5'νουκλεοτιδάσης. Τέλος, το 4-υδροξυβενζοϊκό οξύ ή το p-υδροξυβενζοϊκό οξύ -ένα φαινολικό παράγωγο του βενζοϊκού οξέος- είναι λευκό κρυσταλλικό στερεό, ελαφρώς διαλυτό σε νερό και χλωροφόρμιο, αλλά είναι καλά διαλυτό σε αλκοόλες, αιθέρα και ακετόνη.

Ξανθόνες

Οι ξανθόνες είναι χαρακτηριστική κατηγορία ενώσεων στην ταξινομική ομάδα Clusiaceae και έχουν βρεθεί συγκεντρώσεις αυτών σε όλα τα μέρη του φυτού, με κυριότερη παρουσία στις ρίζες (Nohrstedt *et al.*, 1985). Στην κατηγορία ανήκει η κιελοκρίνη και η 1,3,6,7- τετραυδροξυξανθόνη. Η κιελοκρίνη εντοπίζεται σε συγκεντρώσεις 0.01% και περιέχεται στις ρίζες του φυτού (Nohrstedt *et al.*, 1985) ενώ η 1,3,6,7-τετραυδροξυξανθόνη, σε ανιχνεύσιμες ποσότητες στα φύλλα και τους καρπούς (Nohrstedt *et al.*, 1985).

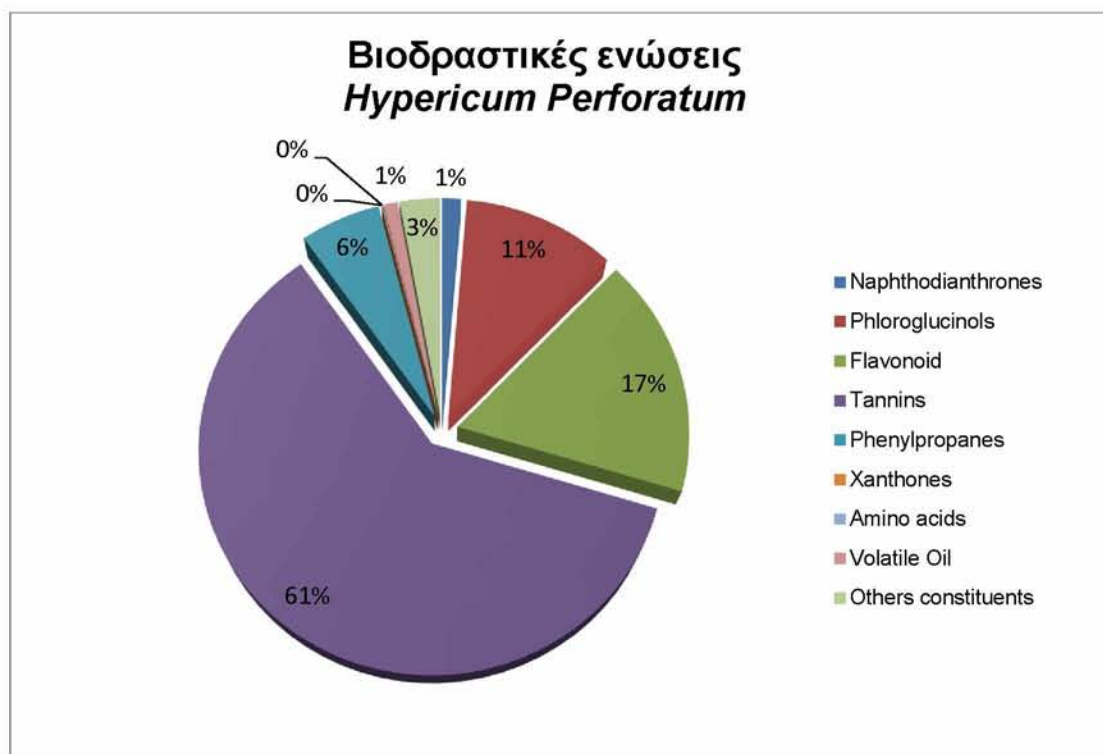
Πτητικά έλαια

Κυριότερα πτητικά έλαια (>30%) είναι το μεθυλο-2-οκτάνιο, το α- πιπένιο, το β-πιπένιο, το α- τερπένιο, η γερανιόλη, το μυρκενιο, το λιμονένιο, το καρυοφυλλένιο και το χουμουλένιο.

Αμινοξέα

Έχει μελετηθεί ένα κλάσμα αμινοξέων, μεταξύ των ενώσεων που εντοπίζονται είναι το γ- αμινοβουτυρικό οξύ (GABA). Ωστόσο, η συνεισφορά αυτών είναι αμελητέα λόγω της μικρής ποσότητας στην οποία καταγράφονται (Nohrstedt *et al.*, 1985). Άλλα αμινοξέα που εντοπίζονται είναι: Κυστεΐνη, Γλουταμίνη, Λευκίνη, Λυσίνη, Ορνιθίνη, Προλίνη, Θρεονίνη (Greenson *et al.*, 2001).

Άλλες ενώσεις: Οξέα (ισοβαλεριανικό, νικοτινικό, μυριστικό, παλμιτικό, στεαρικό), καρετονοειδή, χολίνη, νικοτιναμίδιο, πεκτίνη, β-σισοστερόλη, κορεμένους υδρογονάνθρακες (C₁₆, C₃₀) και αλκοόλες (C₂₄, C₂₆, C₂₈) (Barnes *et al.*, 2007).



Σχήμα 1: Διαγραμματική απεικόνιση σε μορφή πίτας των χημικών ενώσεων ανά κατηγορία που εντοπίζονται στο *Hypericum perforatum* και των συγκεντρώσεων στο «ακατέργαστο» φάρμακο.

Μέθοδοι απομόνωσης και χαρακτηρισμού ενώσεων

Οι μέθοδοι εκχύλισης των δραστικών από το *Hypericum perforatum* που έχουν χρησιμοποιηθεί είναι με: α. τον παραδοσιακό διαβροχή (maceration), β. άμεση υπερήχηση (directsonication), γ. έμμεση υπερήχηση (indirectsonication), δ. Soxhlet extraction και ε. η επιταχυνόμενη εκχύλιση διαλύτη (accelerated solvent extraction, ASE) (Smelcerovic *et al.*, 2009). Ο διαχωρισμός των συστατικών μπορεί να πραγματοποιηθεί με χρωματογραφία. Η αέρια χρωματογραφία GC χρησιμοποιείται για την απομόνωση πτητικών ενώσεων του αιθέριου ελαίου (Derun *et al.*, 2013). Η χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC) και η χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (HTLC) χρησιμοποιούνται με σκοπό την απομόνωση μη πτητικών ενώσεων όπως οι ναφθοδιαρθόνες, φλορογλουκινόνες και τα φλαβονοειδή (Agarouda *et al.*, 2017, Cao *et al.*, 2011, Derun *et al.*, 2013). Επίσης, έχει αναφερθεί ότι ο διαχωρισμός θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί με τη μέθοδο του υπερκρίσιμου σημείου CO₂ (Crockett *et al.*, 2015). Επιπλέον, η ταυτοποίηση και η καθαρότητα μπορούν να πραγματοποιηθούν με MS, Electoanalytical methods (όπως CE) και NMR (Agarouda

et al.,2017). Συνεπώς, ανάλογα με τις ιδιότητες της ένωσης που θέλουμε κάθε φορά να διαχωρίσουμε, επικεντρωνόμαστε στα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της εκάστοτε μεθόδου.

Φλεγμονή και Άλγος

Φλεγμονή

Η φλεγμονή είναι ο προστατευτικός μηχανισμός τον οποίο επιλέγει ο οργανισμός να απαντήσει σε μια επιζήμια προσβολή, όπως μικροβιακή μόλυνση, καταστροφή ιστού ή άλλες επιβλαβείς καταστάσεις. Ουσιαστικά, αποτελεί την απόκριση του ανοσοποιητικού συστήματος ενάντια στον εισβολέα, με σκοπό την αποκατάσταση της κυτταρικής ομοιόστασης (Zdunić *et al.*, 2009). Είναι η αντίδραση των αγγειακών και συνδετικών στοιχείων ενός ιστού σε ένα βλαπτικό παράγοντα και ο σχηματισμός ενός εξιδρώματος πλούσιου σε πρωτεΐνες και κύτταρα. Η φυσική πορεία της φλεγμονής περιλαμβάνει την κυτταρική ή ιστική βλάβη, τις αγγειακές και εξιδρωματικές αλλοιώσεις και την επανόρθωση. Η φλεγμονή χωρίζεται σε δυο κατηγορίες την χρόνια και την οξεία, ανάλογα με το χρονικό διάστημα και τα παθολογικά χαρακτηριστικά που εμφανίζει. Επιπλέον, η ανοσολογική απόκριση στην ιστική βλάβη μπορεί να χωριστεί σε δύο κατηγορίες στην έμφυτη και στην προσαρμοστική απάντηση (Sherwood *et al.*, 2004).

Οξεία Φλεγμονή

Στα κλινικά χαρακτηριστικά της οξείας φλεγμονής συμπεριλαμβάνονται η ερυθρότητα, η διόγκωση, ο πόνος, η θερμότητα και η αλλοιωμένη λειτουργία. Στην οξεία φλεγμονή οι μορφολογικές και λειτουργικές αλλοιώσεις διακρίνονται σε αγγειακές και εξιδρωματικές.

Οι αγγειακές μεταβολές διακρίνονται σε τέσσερα στάδια:

- Στάδιο 1: Το στάδιο της αγγειοσύσπασης πραγματοποιείται έπειτα από μηχανικές ή χημικές επιδράσεις, όπως ένα απότομο χτύπημα.
- Στάδιο 2: Το στάδιο αυτό, πραγματοποιείται λίγα λεπτά μετά τη βλάβη. Οφείλεται στην άμεση επίδραση βιολογικά δραστικών ουσιών και στο παράπλευρο αξονικό αντανάκλαστικό. Στο στάδιο αυτό συμβαίνει αύξηση της θερμότητας και της ερυθρότητας.
- Στάδιο 3: Το στάδιο αυτό περιλαμβάνει την αύξηση της διαπερατότητας στη μικροκυκλοφορία. Προκαλείται εξίδρωση στοιχείων του πλάσματος και αιμοσυμπύκνωση.
- Στάδιο 4: Το στάδιο αυτό περιλαμβάνει την εξωαγγειακή συσσώρευση των

λευκών αιμοσφαιρίων, με σκοπό τη μετανάστευση τους στο σημείο του τραύματος.

Ο χρόνος και ο ρυθμός ανάπτυξης εξιδρώματος σε μια οξεία φλεγμονή εξαρτάται από την βαρύτητα του βλαπτικού παράγοντα. Το εξίδρωμα είναι νερό και μικρομοριακές ενώσεις (ηλεκτρολύτες, γλυκόζη), το οποίο διαπερνά τα διακενά μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων. Η διακίνηση ρυθμίζεται μέσω της υδροστατικής και της ωσμωτικής πίεσης μέσα και έξω από τα αγγεία. Το φλεγμονώδες εξίδρωμα είναι πλούσιο σε λευκώματα και σε λευκοκύτταρα. Ωστόσο, η σημαντικότερη εξίδρωση σε μια οξεία φλεγμονώδη αντίδραση είναι η κυτταρική, δηλαδή η έξοδος και η συγκέντρωση λευκοκυττάρων και κυρίως ουδετερόφιλων και μακροφάγων (μονοκυττάρων) στη θέση της ιστικής βλάβης. Τα κύτταρα αυτά είναι ικανά να φαγοκυτταρώνουν ξένα σωματίδια, μικρόβια καθώς και κυτταρικά νεκρωτικά υπολείμματα. Τέλος, τα λυσοσωμικά τους ένζυμα συμβάλλουν στην άμυνα του οργανισμού.

Η κινητοποίηση των λευκοκυττάρων στην οξεία φλεγμονή ακολουθείται από τα στάδια: περιθωριοποίηση, κύλιση, προσκόλληση, διαπίδυση, χημειοταξία και φαγοκυττάρωση. Η περιθωριοποίηση είναι η διαδικασία μεταφοράς των κυττάρων από την κεντρική κυκλοφορία του αίματος στα περιφερειακά αγγεία. Στη συνέχεια ακολουθούν τα στάδια της κύλισης, προσκόλλησης και διαπίδυσης που συμβάλλουν στην δημιουργία ισχυρής αλληλεπίδρασης μεταξύ των λευκοκυττάρων και των αγγειακών ενδοθηλιακών κυττάρων, με τελικό στόχο τη διευκόλυνση της μεταφοράς των λευκοκυττάρων στο σημείο τραύματος. Επίσης, η συμβολή σε χημειοκίνες διευκολύνει τη μετανάστευση των ουδετερόφιλων, όπως και των υπόλοιπων λευκοκυττάρων στο σημείο της μόλυνσης- τραύματος καθώς αυτά κατευθύνονται προς τη θέση της μεγαλύτερης ποσότητας της ουσίας (Sherwood *et al.*, 2004). Τέλος, σκοπός της συγκέντρωσης των λευκοκυττάρων στην περιοχή της φλεγμονής είναι η ενεργητική πρόσληψη σωματιδίων, των μικροβίων, των κυτταρικών απορριμμάτων και η καταστροφή αυτών.

Οι χημικοί παράγοντες που συμμετέχουν στην οξεία φλεγμονώδη αντίδραση διακρίνονται σε δύο κατηγορίες. Η πρώτη κατηγορία περιλαμβάνει τις χημικές ουσίες που προέρχονται από το πλάσμα (ενδεικτικά: το σύστημα κινινών, το σύστημα συμπληρώματος, το σύστημα των παραγόντων πήξης του αίματος), ενώ η δεύτερη κατηγορία αναφέρεται σε αυτές που προέρχονται από τα κύτταρα. Σε αυτή ανήκουν οι αγγειοδιασταλτικές αμίνες, οι μεταβολίτες αραχιδονικού οξέος, τα συστατικά

λυσσσωμάτων και οι λεμφοκίνες (όπως ιντερλευκίνες).

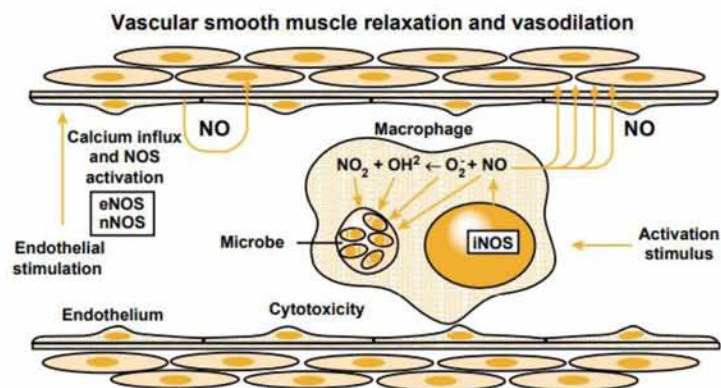
Για την καλύτερη κατανόηση της δράσης των βιοδραστικών ενώσεων του *Hypericum perforatum* θεωρήθηκε σκόπιμο να δώσουμε μεγαλύτερη έμφαση στο μονοπάτι στο οποίο εμπλέκεται και η αντιφλεγμονώδη δράση των ενώσεων του φυτού, και πιο συγκεκριμένα το στάδιο της αγγειοδιαστολής που ακολουθεί μια φλεγμονώδη αντίδραση.

Στάδιο αγγειοδιαστολής

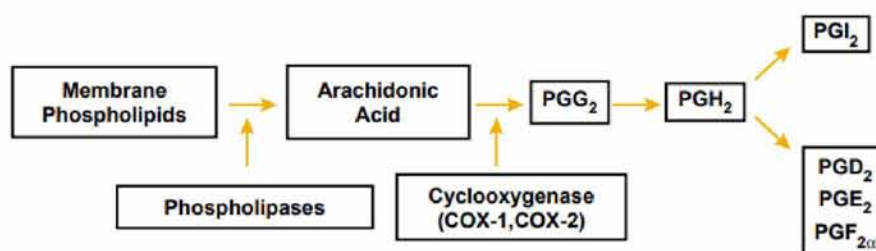
Η αγγειοδιαστολή πραγματοποιείται με σκοπό την διευκόλυνση στην μεταφορά διαλυτών μεσολαβητών και λευκοκυττάρων στο σημείο του τραύματος. Η επαγωγή της αγγειοδιαστολής πραγματοποιείται πρωταρχικά μέσω του νιτρικού οξέος (NO) και των προσταγλαδινών (Sherwood *et al.*, 2004).

Το νιτρικό οξύ (NO) παράγεται από L-αργινίνη μέσω της δράσης ενζύμων σύνθεσης νιτρικού οξέος (NOS) (Σχήμα 3). Συναντάμε τρεις ισομορφές: α. την ενδοθηλιακή συνθάση (eNOS) β. την νευρωνική συνθάση (nNOS), των οποίων η έκφραση αυξάνεται μέσω της εισροής ασβεστίου και γ. την επαγόμενη συνθάση (iNOS), από τα ενεργοποιημένα λευκοκύτταρα έπειτα από έκθεση σε μικροβιακά προϊόντα ή προφλεγμονώδης κυτοκίνες. Η παραγωγή NO επάγει ακόλουθη χαλάρωση των λείων μυών μέσω του κυκλικού GMP- εξαρτώμενου μηχανισμού (Sherwood *et al.*, 2004).

Οι αγγειοδιασταλτικές προσταγλαδίνες είναι οι PGI₂, PGD₂, PGE₂, PGF_{2α}. Αυτοί οι λιπιδικοί μεσολαβητές παράγονται από το αραχιδονικό οξύ μέσω δράσης των κυκλοοξυγενασών (Σχήμα 4). Οι κυκλοοξυγενάσες εντοπίζονται σε δύο ισομορφές, COX-1 και COX-2. Το ένζυμο COX-1 εκφράζεται σε μια μεγάλη ποικιλία κυττάρων, προωθώντας τις φυσιολογικές λειτουργίες, όπως η προστασία του γαστρικού βλενογόνου, ο έλεγχος του κεντρικού νευρικού και του καρδιαγγειακού συστήματος. Η ισομορφή COX-2, η οποία διεγείρεται σημαντικά λόγω κυτοκινών, ενδοτοξινών και αυξητικών παραγόντων, συνεισφέρει στη ανάπτυξη της φλεγμονής. Το αραχιδονικό οξύ προέρχεται από τη διάσπαση των λιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης μέσω της δράσης των φωσφολιπασών, όπως της φωσολιπάσης A2 (Sherwood *et al.*, 2004).



Σχήμα 2: Το νιτρικό οξύ στη ρύθμιση της αγγειοδιαστολής κατά τη φλεγμονή. Το νιτρικό οξύ (NO) παράγεται από L-αργινίνη μέσω της δράσης ενζύμων σύνθεσης νιτρικού οξέος (NOS) και επάγει τη χαλάρωση των λείων μυϊκών ινών (Sherwood *et al.*, 2004).



Σχήμα 3: Αγγειοδιασταλτικές προσταγλαδίνες παράγονται μέσω της δράσης της φωσφολιπάσης και των κυκλοξυγενασών. Ειδικότερα, η διάσπαση των λιπιδίων της μεμβράνης μέσω της δράσης των φωσφολιπασών μετατρέπεται σε αραχιδονικό οξύ, το οποίο στη συνέχεια μεταβολίζεται σε προσταγλαδίνες, χάρη στη δράση των κυκλοξυγενασών (Sherwood *et al.*, 2004).

Χρόνια Φλεγμονή

Στη χρόνια φλεγμονή, λόγω της επιμονής του φλεγμονογόνου ερεθίσματος και της παράτασης της, παρουσιάζει επιπλέον σαφή παραγωγικά φαινόμενα (ινοπλασία). Σε αυτή κυριαρχούν κυρίως τα μονοκύτταρα, τα λεμφοκύτταρα και τα πλασματοκύτταρα.

Άλγος

Σύμφωνα με το International Association for the Study of Pain (IASP), 1979, το άλγος ορίζεται «ως μια δυσάρεστη αισθητική και συναισθηματική εμπειρία, που σχετίζεται με πραγματική ή δυνητική ιστική βλάβη ή περιγράφεται με τους όρους μια τέτοιας βλάβης» (<https://www.iasp-pain.org>). Αποτελεί μια εξελικτικά συντηρημένη αισθητική εμπειρία, παθολογικά απαραίτητη για έναν οργανισμό ώστε να ανιχνεύσει και να αποφύγει τον τραυματισμό. Ο πόνος ταξινομείται σε τρεις κατηγορίες: τον αλγαισθητικό, τον νευροπαθητικό και τον ψυχογενή. Ο πόνος αναφορικά με τη φυσιολογία είτε την παθολογία του, χαρακτηρίζεται από: τη διάρκεια του ερεθίσματος του πόνου (οξύς, υποξύς, τονικός, χρόνιος), τη φύση της προσβολής (χημική/φλεγμονώδης, νευροπάθεια, αλγαισθησία), τον τύπο της απόκρισης (αυθόρμητος, προκαλούμενος) και το σημείο της προσβολής (δερματική, υποδόρια, σπλαχνική, νευροπαθητική).

Η διαδικασία της πρόκλησης και της αντίληψης του πόνου περιλαμβάνει μια πολύπλοκη αλληλεπίδραση δομών του Περιφερικού και του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος, που ξεκινάει από το δέρμα, τα σπλάχνα και τους μυοσκελετικούς ιστούς και φθάνει μέχρι τον εγκεφαλικό φλοιό. Αρχικά, τα επώδυνα ερεθίσματα όπως μηχανικά, θερμικά και χημικά, διεγείρουν τους αλγοϋποδοχείς. Οι αλγογόνες πληροφορίες, που λαμβάνονται, μεταφέρονται ως νευρικές ώσεις, μέσω των πρωτογενών αισθητήριων νευρώνων στο ραχιαίο κέρατο του νωτιαίου μυελού (Υπενθυμίζουμε ότι υπάρχουν 3 είδη προσαγωγών νευρώνων: α. οι μεγάλης διαμέτρου και υψηλής μυέλωσης νευρικές ίνες Αβ, που μεταβιβάζουν μη βλαπτικά ερεθίσματα, β. οι μικρής διαμέτρου, μυελωμένες Αδ ίνες, που μεταβιβάζουν πρωτοταγές μήνυμα του πόνου, γ. οι μικρής διαμέτρου, μη μυελωμένες C ίνες που μεταβιβάζουν δευτερογενές μήνυμα). Το ραχιαίο κέρατο του νωτιαίου μυελού μπορεί να περιγραφεί ως μια πύλη στην οποία χιλιάδες ερεθίσματα από την περιφέρεια φτάνουν και ταξινομούνται, πριν εν τέλει αποσταλούν σε περιοχές επεξεργασίας μηνυμάτων πάνω από τη σπονδυλική στήλη, οι οποίες λαμβάνουν και την τελική απόφαση, προσθέτοντας ένα συναισθηματικό περιεχόμενο στο ερέθισμα. Οι νευρώνες του ραχιαίου κέρατου συμμετέχουν σε τμηματικά πολυσυναπτικά νευρικά αντανakλαστικά με σκοπό την ενεργοποίηση των μυών και τη μετακίνηση του σώματος μακριά από το ερέθισμα, προστατεύοντας τον ιστό από την περεταίρω βλάβη. Συνεπώς, η πληροφορία από το ραχιαίο κέρατο του νωτιαίου μυελού και διαμέσου του έσχάτου και του μέσου εγκεφάλου φτάνει στο θάλαμο όπου και αναλύεται. Από εκεί, διαμέσου των θαλαμοφλοιωδών συνδέσεων, φτάνει στο φλοιό

και σε περιοχές υπεύθυνες για τη συνείδηση και την αντίληψη του πόνου (Velazquez *et al.*, 2007).

Η δράση των πρωτεϊνικών κινασών PKC στο άλγος

Οι πρωτεϊνικές κινάσες PKC είναι μια οικογένεια κινασών σερονίνης/ θρεονίνης οι οποίες διακρίνονται σε τρεις ομάδες, αναφορικά με την εξάρτηση από το κάλιο και τη διακυλογλυκερόλη. Οι μορφές ισοενζύμων cPKCs είναι εξαρτώμενες από το κάλιο και τη διακυλογλυκερόλη. Τα ισοένζυμα nPKCs είναι μόνο από διακυλογλυκερόλη-εξαρτώμενα. Τέλος, οι ισομορφές aPKCs είναι ανεξάρτητες τόσο από το κάλιο όσο και από τη διακυλογλυκερόλη. Συγκεκριμένα, τα ισοένζυμα PKCs που εντοπίζονται στους προσαγωγούς αισθητήριους νευρώνες, συμμετέχουν στη μεταφορά σήματος από την περιφέρεια του τραύματος στο ραχιαίο κέρατο του νωτιαίου μυελού. Επίσης, στα επιφανειακά στρώματα του ραχιαίου νωτιαίου μυελού, περιοχή που εμπλέκεται στην διαδικασία του πόνου, εντοπίζονται ισοένζυμα PKCs. Η ενεργοποίηση αυτών συμμετέχει στην εκπόλωση των προσαγωγών νευρώνων και τη μεταφορά των νευρικών ώσεων στο νωτιαίο μυελό. Αυτό πραγματοποιείται μέσω της δράσης των PKCs στους υποδοχείς TRPV1, μη ειδικά κατιοντικά κανάλια, με σημαντική συμβολή, στον είτε θερμικά ή από φλεγμονή επαγόμενο πόνο. Η δράση των πρωτεϊνικών κινασών (PKCs) δεν εντοπίζεται μόνο στη ενίσχυση της σηματοδότησης του πόνου, αλλά πιθανόν μειώνει τα επίπεδα της αναλγησίας και ενδιαφέρον αποτελεί ότι *in vitro* πειράματα έδειξαν τη συμμετοχή τους στην απόκτηση ανοχής στα οπιοειδή (Velazquez *et al.*, 2007).

Η δράση των υποδοχέων οπιοειδών στο άλγος

Οι υποδοχείς των οπιοειδών βρίσκονται σε νευρώνες και νευρικές οδούς που σχετίζονται με τον πόνο. Υπάρχουν 3 κατηγορίες υποδοχέων οπιοειδών (μ-, δ-, κ-, υποδοχείς) με διακριτά αποτελέσματα, στη ρύθμιση της αναλγησίας. Οι υποδοχείς είναι συζευγμένοι με ανασταλτικές πρωτεΐνες G (πρωτεΐνη που δεσμεύει το νουκλεοτίδιο γουανίνης), οι οποίες αντιδρούν άμεσα με τους διαύλους ιόντων Ca^{++} και K^+ , όπως και με συστήματα δευτεροταγών αγγελιοφόρων όπως η γουανυλική κυκλάση και η φωσφολιπάση A2. Ειδικότερα, το ενδοκυττάριο Ca^{++} διευκολύνει ενδοκυττάρια διεργασίες, όπως η απελευθέρωση νευροδιαβαστών ή η παραγωγή δυναμικού ενέργειας. Οι αγωνιστές των κ υποδοχέων δεσμεύονται στους διαύλους Ca^{++} και ελαττώνουν την είσοδο του Ca^{++} , σε αντίθεση με τους αγωνιστές των μ και δ υποδοχέων, οι οποίοι αυξάνουν την αγωγιμότητα του K^+ . Επομένως, το τελικό

αποτέλεσμα είναι η αύξηση της αγωγιμότητας του K^+ ή η ελάττωση του ρεύματος του Ca^{++} , με αποτέλεσμα την αδρανοποίηση της αδενυλοκυκλάσης και την επακόλουθη ελάττωση της παραγωγής cAMP και άλλων δευτερογενών αγγελιοφόρων, ώστε να εμποδίζεται η εκπόλωση της μεμβράνης και η μεταφορά των νευρικών μηνυμάτων, όπως το αίσθημα του πόνου (Dickenson, 1991).

Επομένως, είναι προφανές, ότι ο μηχανισμός της φλεγμονής και του άλγους περιλαμβάνει πλήθος αντιδράσεων και μορίων. Η διερεύνηση, εκείνων των βιοδραστικών ενώσεων του *Hypericum perforatum*, που εμπλέκονται σε μονοπάτια φλεγμονής και πόνου που παρουσιάστηκαν παραπάνω, αποτελεί κρίσιμο παράγοντα στην αξιολόγηση της αντιφλεγμονώδους και αναλγητικής δράσης αυτού. Το ενδιαφέρον μας επικεντρώθηκε σε μόρια στόχους των βιοδραστικών ενώσεων του *Hypericum perforatum* και πως αυτά εμπλέκονται στην φλεγμονή και τον πόνο.

Κατηγορίες αντιφλεγμονώδη φαρμάκων

Στην παρούσα μελέτη, εξετάστηκαν οι κατηγορίες των αντιφλεγμονώδη φαρμάκων που κυκλοφορούν στο εμπόριο και κατηγοριοποιήθηκαν, αναφορικά με το μηχανισμό δράσης τους. Από μόνης της η φλεγμονώδης αντίδραση είναι υπεύθυνη για την πρόκληση πόνου στον ιστό που έχει υποστεί βλάβη. Συνεπώς, με γνώμονα ότι για την αντιμετώπιση της αναλγησίας, στις περισσότερες εκ των περιπτώσεων χορηγούνται αντιφλεγμονώδη φαρμακευτικά σκευάσματα, η ανασκόπηση επικεντρώθηκε στην τεκμηρίωση της δράση αυτών.

Μη- στεροειδή αντιφλεγμονώδη

Τα μη- στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα αναστέλλουν τη δράση των κυκλοοξυγενασών (δύο ισομορφές: COX-1 και COX-2), ενζύμων που συμμετέχουν στη σύνθεση των προσταγλαδινών (Tulioetal., 2012). Τα μη-στεροειδή αντιφλεγμονώδη που κυκλοφορούν στο εμπόριο κατατάσσονται στις κατηγορίες:

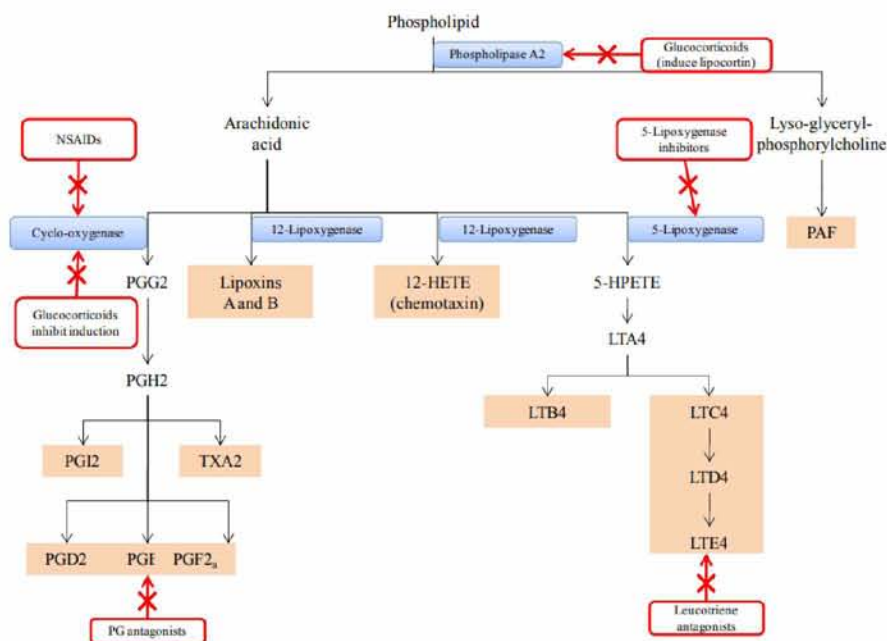
- σαλικυλικά (acetylosalicylic acid, diflunisal, salicylic acid, salsalate)
- παράγωγα προπιονικού οξέος (ibuprofen, dexibuprofen, naproxen, fenoprofen, dexketoprofen, ketoprofen, flurbiprofen, oxaprozin, loxoprofen)
- παράγωγα οξικού οξέος (indomethacin, tolmetin, sulindac, etodolac, ketorolac, diclofenac, aceclofenac και το nabumetone)
- παράγωγα ενολικού οξέος (piroxicam, meloxicam, tenoxicam, droxicam, lornoxicam, phenylbutazone)
- παράγωγα αθρανιλικού οξέος (mefenamic, meclofenamic acid, flufenamic acid, tolfenamic acid)
- Εκλεκτικός αναστολέας COX-2. Στην κατηγορία αυτοί ανήκουν αντιφλεγμονώδη φάρμακα τα οποία αναστέλλουν τη δράση μόνο του COX-2, κάτι το οποίο φάνταζε ιδανικό, με σκοπό την μείωση των γαστρεντερικών παρενεργειών που πολλές φορές προκαλούσε η αναστολή του COX-1. Ωστόσο, η εκλεκτική αναστολή του COX-2 παρουσιάζει σημαντικές παρενέργειες, όπως υψηλός καρδιαγγειακός κίνδυνος, με αποτέλεσμα πλήθος φαρμάκων να αποσυρθούν άμεσα από την αγορά.
- σουλφονανίδια (nimesulide)
- άλλα αντιφλεγμονώδη (clonixin και licofelone)

Γλυκοκορτικοστεροειδή

Οι κυριότεροι αντιπρόσωποι της κατηγορίας είναι η υδροκορτιζόνη, η πρενδιζόνη, η μεθυλπρενδιζολόνη, η τριαμκινολόνη, δεξαμεθαζόνη και η βεταμεθαζόνη. Τα γλυκοκορτικοστεροειδή (γνωστά ως γλυκοκορτικοειδή, κορτικοστεροειδή ή απλώς στεροειδή) είναι στεροειδή ορμόνες που προέρχονται από το μεταβολισμό της χοληστερόλης. Τα γλυκοκορτικοειδή παρουσιάζουν αντιφλεγμονώδεις και ανοσοκατασταλτικές ιδιότητες. Δρουν μέσω πολλών μοριακών μηχανισμών, μια εκ των οποίων είναι μέσω του γλυκοκορτικοειδή κυτοσολικού υποδοχέα, που ρυθμίζει άμεσα την γονιδιακή έκφραση πολλών γονιδίων της φλεγμονής. Στην ανενεργή μορφή τους, οι γλυκοκορτικοειδή υποδοχείς εντοπίζονται σε μια κυτοσολική πρωτεΐνη ενωμένη σε δύο μόρια chaperonin. Η δέσμευση του προσδέτη γλυκοκορτικοειδών προκαλεί μια διαμόρφωση που επιτρέπει την αποδέσμευση του υποδοχέα από το πρωτεϊνικό σύμπλεγμα και την είσοδο στον πυρήνα, αναστέλλοντας ή διεγείροντας την έκφραση γονιδίων. Ειδικότερα, επάγει γονίδια που κωδικοποιούν μόρια με αντιφλεγμονώδη ιδιότητες, όπως λιποκορτίνη-1, IL-10, TGF- β , ενώ καταστέλλει τη δράση γονιδίων της φλεγμονής όπως κυτοκίνες (IL1, IL-6, IL-8, TNF- α), χημειοκίνες, μόρια προσκόλλησης (E-σελεκτίνη, ICAM-1, VCAM-1), ένζυμα που σχετίζονται με τη φλεγμονή (φωσφολιπάση A₂, COX-2, iNOS) και αλληλεπιδράσεις με μεταγραφικούς παράγοντες που διεγείρονται τη φλεγμονώδη απόκριση (NF κ B και AP-1) (Tulio *et al.*, 2012).

Αντιλευκοτριένια

Ο μηχανισμός δράσης των αντιλευκοτριενίων εντοπίζεται στο γεγονός ότι αναστέλλουν τη δράση της 5- λιποξυγενάσης (5- LO) ή λειτουργούν ανταγωνιστικά προς την πρόσδεση των λευκοτριενίων CysLTs (C₄, D₄, E₄) και LTB₄ στον υποδοχέα CysLTRs. Ειδικότερα στην αγορά ως αναστολέας 5-LO χρησιμοποιείται το zileuton, η μόνη ένωση που συμβάλλει στη μείωση παραγωγής CysLTs και LTB₄. Ανταγωνιστικοί αναστολείς του υποδοχέα CysLTR1 (υποδοχέα πρόσδεσης μόνο των CysLTs) είναι το Montelukast, το Zafirlukast και το Pranlukast. Οι CysLTRs (εμφανίζονται σε δύο υποτύπους CysLTR1, 2) δεσμεύονται σε διαμεμβρανικούς υποδοχείς συζευγμένων με πρωτεΐνη G, που εντοπίζονται στα λευκοκύτταρα, στα κύτταρα των λείων μυών και των ενδοθηλιακών κυττάρων. Αντίθετα, η LTB₄ δεσμεύεται στους υποδοχείς BLTRs (BLT1R, BLT2R) που εμπλέκονται στην ενεργοποίηση των T-λεμφοκυττάρων και των μαστικών κυττάρων, σχήμα 7 (Riccioni *et al.*, 2007).



Σχήμα 4: Το μονοπάτι του αραχιδονικού οξέος οδηγεί στη σύνθεση ενός μεγάλου αριθμού μεσολαβητών της φλεγμονής. Πολλά βήματα του μονοπατιού είναι δυνητικοί αντιφλεγμονώδεις στόχοι, όπως οι κυκλοξυγενάσες, η 5- LO, οι προσταγλαδίνες και οι φωσφολιπάσες (Tulio *et al.*, 2012).

Ανοσοεκλεκτικά αντιφλεγμονώδη παράγωγα

Τα ανοσοεκλεκτικά αντιφλεγμονώδη παράγωγα είναι μια νέα κατηγορία πεπτιδίων, που έχουν αντιφλεγμονώδη δράση και δεν σχετίζονται ούτε με τα γλυκοκορτικοειδή ούτε με τα μη-στεροειδή αντιφλεγμονώδη. Αυτά δρουν μεταβάλλοντας την ενεργοποίηση και τη μετανάστευση των κυττάρων της φλεγμονής, αλλάζοντας την προσκόλλησή τους (αΜβ2 ιντεγκρίνη) και μειώνουν την έκφραση του NF-κΒ. Έχει εντοπιστεί ένα επτά-πεπτιδίο και ένα τριπεπτιδίο (phe-glu-gly) που έχουν απομονωθεί από την έκκριση των σιελογόνων αδένων (Dhingra *et al.*, 2015).

Δραστικές ενώσεις *Hypericum perforatum* – Αξιολόγηση αποτελεσμάτων με αντιφλεγμονώδη και αναλγητική δράση

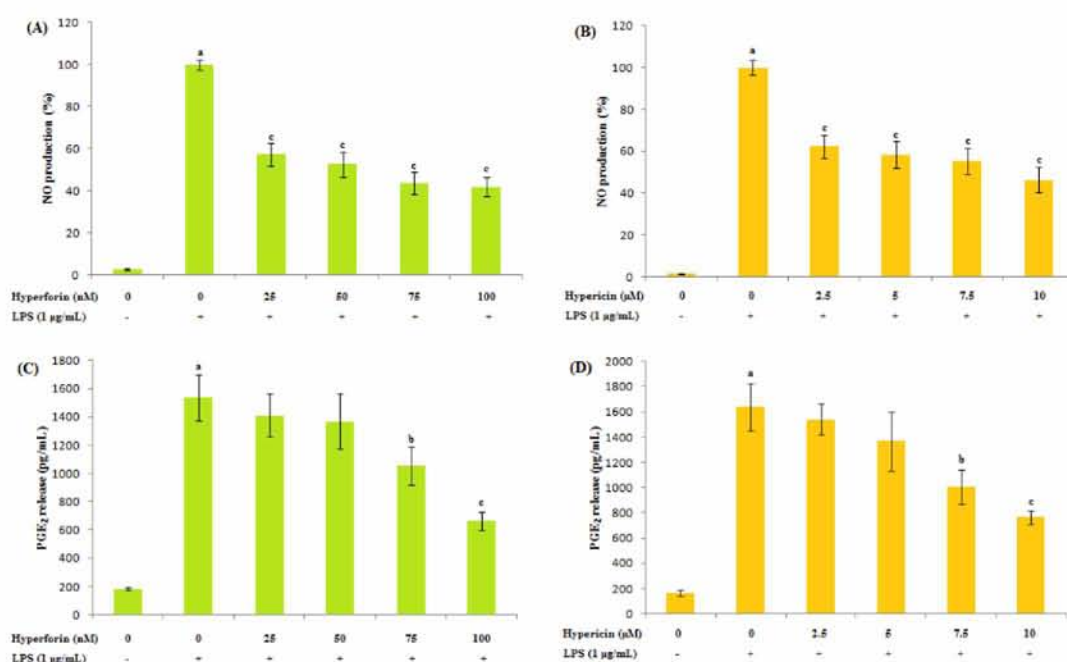
Φλεγμονή

Οι δραστικές ενώσεις του *Hypericum perforatum* που χαρακτηρίζονται για την αντιφλεγμονώδη δράση είναι η υπερικίνη, η ψευδοπερικίνη, η υπερφορίνη, η αδυπερφορίνη, η κουερσετίνη, η ισοκερκιτίνη και η αμετοφλαβόνη. Η αξιολόγηση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση εκχυλίσματος του φυτού και καθαρών ενώσεων. Για την καλύτερη τεκμηρίωση των αποτελεσμάτων αρχικά παραθέτονται τα αποτελέσματα των καθαρών ενώσεων και στη συνέχεια εκείνα με τη χρήση του εκχυλίσματος.

Η υπερικίνη καταστέλλει τη γονιδιακή έκφραση της κυκλοξυγενάσης -2 (COX-2) και της επαγώμενης συνθάσης νιτρικού οξέος (iNOS) (Yildirim *et al.*, 2017). Σε in vitro πειράματα, οι συγκεντρώσεις υπερικίνης που χρησιμοποιήθηκαν κυμαίνονταν από 2.5 μ M έως 10 μ M δεν επηρεάζουν τη βιωσιμότητα των κυττάρων, ενώ το επίπεδο παραγωγής προσταγλαδινών και νιτρικού οξέος μειώθηκε μέχρι 53%. Τα αποτελέσματα επιβεβαιώθηκαν και με την μείωση των επιπέδων έκφρασης των iNOS και COX-2, υπεύθυνα για την εξέλιξη της φλεγμονής (Yildirim *et al.*, 2017). Επιπλέον, η υπερικίνη αναστέλλει την ενεργότητα της λιποξυγενάσης -12, -15 (12-LO, 5-LO) και την παραγωγή της ιντερλευκίνης α , -12 (IL- α , IL-12) (Hammer *et al.*, 2007). Σημαντική επίδραση έχει και στην αναστολή του NF- κ B (Sosa *et al.*, 2007). (Σημείωση: Στη μορφή ελαίου, Oleum Hyperici, δεν ανιχνεύεται διότι η ένωση αποικοδομείται, λόγω υψηλής θερμοκρασίας και παρουσίας φωτός.). Επιπρόσθετα, η ψευδοπερικίνη αναστέλλει την ενεργότητα της 12-LO (Raso *et al.*, 2002).

Όσον αφορά την αντιφλεγμονώδη δράση των φλορογλουκινονών, η υπερφορίνη καταστέλλει τη γονιδιακή έκφραση του COX-2 και iNOS (Yildirim *et al.*, 2017). Αναλυτικότερα, συγκεντρώσεις υπερφορίνης μεταξύ 25 – 100nm δεν επηρεάζουν τη βιωσιμότητα των κυττάρων και τα επίπεδα παραγωγής PGE₂ μειώθηκαν μέχρι 56%, όταν χρησιμοποιούνταν οι μέγιστες συγκεντρώσεις. Ενδιαφέρον είναι ότι παρατηρούμε μια δόσο-εξαρτώμενη συσχέτιση μεταξύ των συγκεντρώσεων της υπερφορίνης που χρησιμοποιείτο και των επιπέδων μείωσης της παραγωγής προσταγλαδινών. Όσον αφορά, τα επίπεδα παραγωγής νιτρικού οξέος τα ποσοστά

κυμαίνονταν σε αντίστοιχα επίπεδα, με 53% μείωση σε σύγκριση με το δείγμα αναφοράς. Τα αποτελέσματα, επιβεβαιώθηκαν και με την μείωση των επιπέδων έκφρασης των iNOS και COX-2, υπεύθυνα για την εξέλιξη της φλεγμονής (Yildirim *et al.*, 2017). Μάλιστα, η υπερφορίνη συμμετέχει στην καταστολή του COX-1, 5-LO και εμπλέκεται στο μονοπάτι COX-2/mPGES-1 (Hammer *et al.*, 2007, Koeberle *et al.*, 2011). Επίσης, σημειώνεται ότι αναστέλλει την IL-6 (Sosa *et al.*, 2007). Πειραματικά, η αδυπερφορίνη έχει δείξει αντιφλεγμονώδη ιδιότητες (Sosa *et al.*, 2007).



Σχήμα 5: Αποτελέσματα της υπερφορίνης (A, C) και υπερικίνης (B, D), έπειτα από επαγόμενη-LPS παραγωγή NO και PGE₂ σε μακροφάγα RAW 264.7 (Yildirim *et al.*, 2017).

Στα флаβονοειδή, η κουερσετίνη μειώνει τα επίπεδα COX-2 (Sosa *et al.*, 2007), ενώ η ισοκουερσετίνη αναστέλλει τη βιοσύνθεση και την απελευθέρωση προσταγλαδινών (δεν αναφέρεται μηχανισμός) (Sosa *et al.*, 2007). Η αμετοφλαβόνη έχει αντιοξειδωτική δράση, αναστέλλοντας τη φωσφολιπάση A2 και τις COXs.

Σε *in vivo* πειράματα σε αρουραίους αξιολογήθηκε η δραστηριότητα του εκχυλίσματος *Hypericum perforatum*, έπειτα από πρόκληση οιδήματος στα αυτιά. Στα πειράματα, μετρήθηκε η μείωση του οιδήματος στο ένα αυτί που χορηγήθηκε το εκχύλισμα σε σύγκριση με το άλλο στο οποίο δεν χορηγήθηκε καμία δραστική ένωση, έπειτα από ζύγισμα (Sosa *et al.*, 2007). Το ίδιο πραγματοποιήθηκε με οίδημα που προκλήθηκε

στα πόδια των αρουραίων και αξιολογήθηκε η μείωση του όγκου του οιδήματος με την πάροδο του χρόνου. Η μείωση αξιολογήθηκε τόσο με το control, αλλά και με το αντιφλεγμονώδες ινδομετακίνη (Raso *et al.*, 2002).

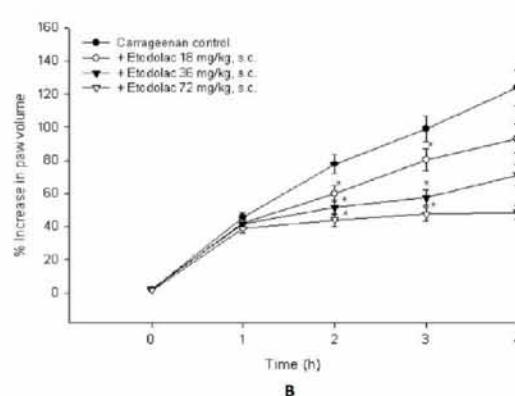
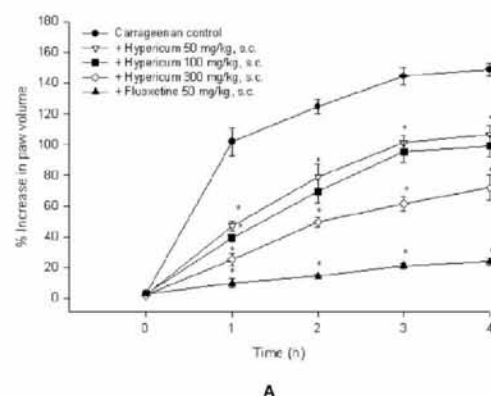
Αναλυτικότερα, τα αποτελέσματα δείχνουν μια μείωση του οιδήματος έως 65% (Δόση H.p extract: 200mg/kg), στα ίδια επίπεδα με εκείνη από την χορήγηση της ινδομετακίνης (Δόση 20 mg/kg). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η ταυτόχρονη χορήγηση ενισχύει την αντιφλεγμονώδη δράση όπως φαίνεται στον πίνακα 2 (Kumar *et al.*, 2000). Τα αποτελέσματα έχουν αξιολογηθεί με φλουοξετίνη (50 mg/kg) και ετοδολάκη (18, 36, 72mg/kg), στα οποία επιβεβαιώνεται η αντιφλεγμονώδη δράση του μιας και προκαλεί σημαντικά μικρότερο οίδημα, Σχήμα 6 (Omar, 2005).

Πίνακας 2: Τα αποτελέσματα του *Hypericum perforatum* στην επαγόμενη από καραγενάνη φλεγμονή (carrageenan-induced inflammation) στο πόδι του αρουραίου (Kumar *et al.*, 2000).

Treatment	Dose(mg/kg)	Mean % edema at 3 hr	% inhibition
Vehicle (10)	-	175.64 ± 6.70	-
IHp (6)	100	71.90 ± 2.80*	59.06
IHp (6)	200	62.48 ± 3.10*	64.43
Indomethacin (6)	20	60.87 ± 2.45*	65.34
IHp+Indomethacin (6)	100+20	55.35 ± 1.90*	68.49
IHp+Indomethacin (6)	200+20	51.24 ± 1.84*	70.83

Values in parentheses indicate number of animals; IHp= Indian *Hypericum perforatum*;

* $P < 0.01$ in comparison to vehicle (ANOVA followed by Mann-Whitney *U*-test).



Σχήμα 6: Η αντιφλεγμονώδης δράση του *Hypericum perforatum* (50, 100, 300 mg/kg), της φλουοξετίνης (50mg/kg) και της ετοδολάκης (18, 36, 72mg/kg) (Omar, 2005).

Με *in vivo* πειράματα πρόκλησης οιδήματος στο αυτί αξιολογήθηκε η αντιφλεγμονώδη δράση της υπερικίνης (μείωση 23- 88%, σε δόση 0.125-0.5 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$) και της υπερφορίνης (μείωση 28- 87%, σε δόση 0.1-1.0 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$) (Sosa *et al.*, 2007).

Άλγος

Η βιολογική δράση των βιοδραστικών συστατικών αναφορικά με τον πόνο έχει αξιολογηθεί *in vivo*. Έπειτα από πειράματα σε αρουραίους εντοπίστηκε και τεκμηριώθηκε η αναλγητική δράση του *Hypericum perforatum*. Ειδικότερα, μέσω δοκιμών θερμής πλάκας ("hotplate test"), δοκιμή μέσω ηλεκτρικής διέγερσης της ουράς ("tail electric stimulation test") και επαγόμενη μέσω οξικού οξέος δοκιμασία κοιλιακής συστολής ("acetic acid-induced abdominal constriction test"), τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν τις αναλγητικές του ιδιότητες (Omar., 2005, Galeotti *et al.*, 2010). Τα αποτελέσματα αξιολογήθηκαν και συγκρίθηκαν με ενώσεις όπως η φλουοξετίνη, εκλεκτικός αναστολέας επαναπρόσληψης σεροτονίνης, και ετοδολάκη μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες.

Τα αποτελέσματα των δοκιμών θερμής πλάκας έδειξαν μέχρι 50% καθυστέρηση στην αντίδραση στον πόνο (αύξηση στο κατώφλι) έπειτα από χορήγηση 25 mg/kg εκχυλίσματος *Hypericum perforatum*. Η φλουοξετίνη (10mg/kg) και η ετοδολάκη (72mg/kg) μείωναν την αντίδραση στον πόνο κατά 77.8% και 38.8% αντίστοιχα. Η δοκιμή μέσω διέγερσης της ουράς έδειξε μείωση στην αντίδραση κατά 37.7%, 42.5% και 21.8% έπειτα από χορήγηση *Hypericum perforatum*, φλουοξετίνης και ετοδολάκης (Omar, 2005).

Συνοψίζοντας, από τη εξεταζόμενη βιβλιογραφία είναι φανερό τόσο η αντιφλεγμονώδη όσο και η αναλγητική δράση του *Hypericum perforatum*, με ελάχιστες παρενέργειες. Ωστόσο, αυτό δεν έχει αξιολογηθεί και τεκμηριωθεί επιστημονικά σε ανθρώπους, ούτε έχει καθοριστεί η ακριβής θεραπευτική δόση. Σημειώνεται, παρότι ορισμένες έρευνες χρησιμοποιούσαν εκχύλισμα ενώ άλλες καθαρές δραστικές ενώσεις, επέλεξα να δώσω έμφαση στις ενώσεις υπερφορίνη και υπερικίνη, που αποτελούν χαρακτηριστικό της οικογένειας των *Hypericum*, διακρίνοντας τις από τις υπόλοιπες δραστικές που εντοπίζουμε και σε άλλα φαρμακευτικά φυτά, όπως τα φλαβονοειδή.

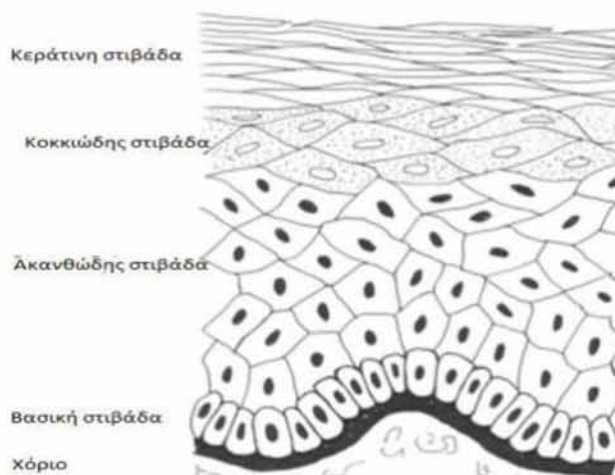
Δέρμα και διείσδυση φαρμάκου

Ανατομικά, το δέρμα μπορεί να χωριστεί σε δύο στοιβάδες: την επιδερμίδα και το χόριο, που διεισδύεται από στελέχη τρίχας και ιδρωτοποιούς αδένες. Το δέρμα είναι ένα τα πιο εκτενή όργανα του ανθρώπινου σώματος, καλύπτοντας μια περιοχή 2 m² σε ένα μέσο ενήλικο άτομο. Οι βασικές δερματικές στοιβάδες από μέσα προς τα έξω είναι η λιπώδη υποδόρροια στιβάδα, το χόριο και η επιδερμίδα (Rastogi et al., 2012).

Η επιδερμίδα αποτελείται από ένα βασικό επιθηλιακό κυτταρικό πληθυσμό με πάχος 150 μm. Στην επιδερμίδα, η διαδικασία της διαφοροποίησης των κυττάρων λαμβάνει χώρα από τη μετανάστευση των κυττάρων από τη βασική στοιβάδα προς την επιφάνεια του δέρματος. Η επιδερμίδα δεν περιέχει αιμοφόρα αγγεία και συνεπώς οι ουσίες θα πρέπει να διαχέονται μέσω της επιδερμίδας, διατηρώντας την ζωτικότητα τους. Η επιδερμίδα, από μέσα προς τα έξω αποτελείται από: τη βασική ή μητρική στιβάδα, την ακανθωτή στιβάδα, την κοκκώδη στιβάδα και την κεράτινη στιβάδα (Rastogi et al., 2012).

Η κεράτινη στοιβάδα, η οποία αποτελείται από νεκρά απύρρηνα πεπλατυσμένα κύτταρα κερατίνης στενά συνδεδεμένα μεταξύ τους και καθιστά το μεγαλύτερο φραγμό στη διαδερμική μεταφορά των ουσιών. Ειδικότερα, τα διαφοροποιημένα κερατινοκύτταρα σχηματίζουν στοιβάδα πολλαπλών στρώσεων (15- 20 στρώσεις) με πάχος 10- 15 μm, ενώ έπειτα από ενυδάτωση η έκταση του πάχους μπορεί να αυξηθεί έως τα 40 μm (Rastogi et al., 2012). Η δομή της κεράτινης στοιβάδας περιγράφεται με το σχηματισμό «τούβλο και κονίαμα», με τα κερατινοκύτταρα (τούβλο) να ενώνονται μεταξύ τους μέσω λιπιδικής μήτρας (κονίαμα). Αναλυτικότερα, η λιπιδική μήτρα αποτελείται από ελεύθερα λιπαρά οξέα, τριγλυκερίδια, χοληστερόλη, σουλφίδια χοληστερόλης και εστέρες στερόλης, τα οποία προέρχονται από κερατινοκύτταρα του άνω στρώματος της κοκκιώδης στιβάδας. Τα αρχικά στρώματα της κεράτινης στοιβάδας αναδιατάσσονται για να σχηματίζουν εκτενή διακυτταρικά λιπιδικά φύλλα, τα οποία ενώνονται, σχηματίζοντας μια λιπιδική διπλοστιβάδα. Ως αποτέλεσμα, η λιπιδική σύνθεση της κεράτινης στοιβάδας διαφέρει από εκείνη των βιολογικών μεμβρανών. Μάλιστα, το νερό είναι βασικό συστατικό της κεράτινης στοιβάδας, το οποίο δρα ως πλαστικοποιητής, προσφέροντας της ελαστικότητα και ευλυγισία. Τέλος, με σκοπό να αντιληφθούν καλύτερα οι φυσικοχημικές ιδιότητες ενός

διαχεομένου φαρμάκου μέσω της διαδερμικής μεταφοράς, αρκεί να υπογραμμιστεί ότι η ουσία για να διαχυθεί από το ένα κερατινοκύτταρο στο επόμενο αρκεί να περάσουν 4- 20 λιπιδικές στρώσεις και επομένως, η ουσία θα πρέπει να διαχυθεί μεταξύ πολλαπλών υδροφιλικών και υδροφοβικών περιοχών (Dhiman *et al.*, 2011).



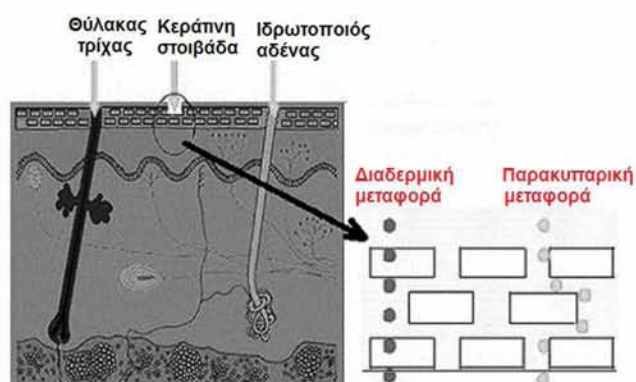
Εικόνα 3: Στοιβάδες επιδερμίδας (Dhiman *et al.*, 2011)

Σύστημα διαδερμικής μεταφοράς ουσιών

Διαδερμική μεταφορά φαρμάκων ορίζεται ως η «μη επεμβατική μεταφορά ουσιών στη συστηματική κυκλοφορία με προκαθορισμένο και ελεγχόμενο ρυθμό μέσω της επιφάνειας του δέρματος». Η καινοτομία στο χώρο της μεταφοράς φαρμάκων που παρατηρείται τις τελευταίες δύο δεκαετίες δεν αφήνει ανεπηρέαστη και την ανάπτυξη συνεχώς καινοτόμων προϊόντων στο τομέα της διαδερμικής μεταφοράς ουσιών (Rastogi *et al.*, 2012). Το 1979, εγκρίθηκε από τον FDA, το πρώτο διαδερμικό σύστημα μεταφοράς φαρμάκων. Από τότε περισσότερα από 30 προϊόντα, χρησιμοποιούνται για διαδερμική μεταφορά φαρμάκων στις Ην. Πολιτείες, και περισσότερα από 10 έχουν πάρει έγκριση για παγκόσμια χρήση (Bharadway *et al.*, 2011).

Η διαδερμική μεταφορά έχει αποκτήσει προβάδισμα έναντι της ενέσιμης ή της στοματικής χορήγησης φαρμάκων, διότι προσφέρει μεγαλύτερη συμμόρφωση του ασθενούς και αποφεύγει τον πρώτο μεταβολισμό των ουσιών, αντίστοιχα. Στον Πίνακα 2, παρουσιάζονται τα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της μεταφοράς φαρμάκων μέσω της επιφάνειας του δέρματος (Rastogi *et al.*, 2012).

Υπάρχουν τρεις οδοί μεταφοράς φαρμάκου μέσω της κεράτινης στοιβάδας. Πρώτον, η μεταφορά μέσω των ιδρωτοποιών αδένων και των θυλάκων της τρίχας, τα οποία παρέχουν ένα συνεχές κανάλι το οποίο διεισδύσει την κεράτινη στιβάδα. Δεύτερον, μέσω της διακυτταρικής οδού στην οποία τα φάρμακα περνούν διαμέσου των κερατινοκυττάρων, που περιέχουν ενυδατωμένη κερατίνη και παρέχουν ένα υδάτινο περιβάλλον από το οποίο μπορούν να διαπερνούν υδρόφιλες ουσίες. Τρίτον, μέσω της παρακυτταρικής οδού, η οποία περιλαμβάνει την διάχυση των φαρμάκων μέσω μιας συνεχούς λιπιδικής μήτρας και η ουσία θα πρέπει να διαχέεται σε εναλλαγές υδρόφιλου και λιπιδικού περιβάλλοντος, όπως τα μικρά μη φορτισμένα μόρια (Rastogi et al., 2012).



Εικόνα 4: Διείσδυση φαρμάκου διαμέσου του δέρματος (Rastogi et al., 2012)..

Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη διαδερμική μεταφορά φαρμάκων είναι βιολογικοί, φυσικοχημικοί και περιβαντολλογικοί. Στους βιολογικούς παράγοντες εντάσσεται η κατάσταση του δέρματος, η ηλικία του δέρματος και το σημείο του σώματος που εφαρμόζεται. Στους φυσικοχημικούς ανήκει η ενυδάτωση, η θερμοκρασία και το pH του δέρματος. Όσον αφορά τους περιβαντολλογικούς παράγοντες, η ηλιακή ακτινοβολία, η ψυχρή περίοδος και η ρύπανση του αέρα φαίνεται να επηρεάζουν τη διαδερμική μεταφορά φαρμάκων (Rastogi et al., 2012).

Πίνακας 2: Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της διαδερμικής χορήγησης φαρμάκων (Rastogi et al., 2012).

Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
Αποφυγή του «πρώτου μεταβολισμού» και της ενζυμικής αποσύνθεσης από το γαστρεντερικό σύστημα – Αποφυγή γαστρεντερικών ενοχλήσεων	Μόνο μικρές λιποφιλικές ουσίες μπορούν να μεταφερθούν (M.W.<500 kDa)
Αποφυγή των ανώτερων και κατώτερων σημείων - Συνεχής απελευθέρωση φαρμάκου	Ακατάλληλο για υψηλές δόσεις φαρμάκων
Ιδανική για φάρμακα που απαιτούν σταθερά επίπεδα της ουσίας στο πλάσμα	Επαρκής υδατική και λιπιδική διαλυτότητα ($1 < \log P < 3$)
Λιγότερο συχνή δόση βελτιώνει την συμμόρφωση του ασθενούς	Η προσκόλληση ποικίλλει ανάλογα τον τύπο του επιθέματος και περιβαλλοντικούς παράγοντες
Εναλλακτική λύση για ασθενείς που δεν έχουν την ικανότητα στοματικής χορήγησης φαρμάκων	Δερματικές ενοχλήσεις και υπερευεσθησία πιθανόν να συμβούν
Η μεταφορά ουσιών δεν επηρεάζεται από διάρροια ή εμετό	Η λειτουργία φραγμού του δέρματος επηρεάζεται από παράγοντες όπως το σημείο επαφής του επιθέματος, το άτομο και την ηλικία
Η χορήγηση του φαρμάκου σταματά με την αφαίρεση του αυτοκόλλητου επιθέματος «Βολική» μέθοδος – Εβδομαδιαία εφαρμογή	
Φάρμακό με μικρό χρόνο ημιζωής	

Βασικά συστατικά διαδερμικού επιθέματος

Ένα τυπικό διαδερμικό επίθεμα αποτελείται από: μεμβράνη στήριξης, μήτρα πολυμερούς, δραστική ουσία, διαπερατή μεμβράνη, επιταχυντές διεισδυτικότητας, πιεσο-ευαίσθητα συγκολλητικά, εξωτερική μεμβράνη και άλλα έκδοχα όπως πλαστικοποιητές και διαλύτες.



Εικόνα 5: Τυπικό διαδερμικό σύστημα.

Η μήτρα πολυμερούς ή δεξαμενή φαρμάκου αποτελεί τη ραχοκοκαλιά της διαδερμικής μεταφοράς φαρμάκου, διότι ελέγχει την απελευθέρωση του φαρμάκου από τη συσκευή. Μια μήτρα πολυμερούς προετοιμάζεται με την διασπορά του φαρμάκου σε μια υγρή ή στερεή φάση πολυμερούς βάσης. Τα πολυμερή που χρησιμοποιούνται θα πρέπει να διαθέτουν τόσο βιοσυμβατότητα όσο και χημική συμβατότητα με τις δραστικές και τα υπόλοιπα συστατικά του συστήματος. Τα κριτήρια για την επιλογή ενός πολυμερούς το οποίο θα χρησιμοποιηθεί σε ένα σύστημα διαδερμικής μεταφοράς είναι το μοριακό βάρος, η θερμοκρασία μετάπτωσης υάλου και η χημική λειτουργικότητα. Επίσης, το πολυμερές θα πρέπει να είναι σταθερό, να μην αντιδρά με το φάρμακο, εύκολο στην κατασκευή και φθινό. Τα προϊόντα από την αποσύνθεση του πολυμερούς θα πρέπει να είναι μη τοξικά και όσον αφορά τις μηχανικές ιδιότητες του πολυμερούς δεν θα πρέπει να καταστρέφεται όταν μεγάλες ποσότητες ενεργών συστατικών συσσωματώνονται σε αυτό (Rastogi et al., 2012).

Πίνακας 3: Πολυμερή που χρησιμοποιούνται στα Συστήματα Διαδερμικής Μεταφοράς (Rastogi et al., 2012).

Φυσικά Πολυμερή	Συνθετικά ελαστομερή	Συνθετικά πολυμερή
Cellulose derivatives, zein, gelatin, waxes, proteins and their derivatives, natural rubber, starch, chitosan, etc.	Polybutadiene, hydri rubber, polysiloxane silicone rubber, nitrile, acrylonitrile, butyl rubber, styrene-butadiene rubber, neoprene, etc.	Polyvinylalcohol, polyvinylchloride, polyethylene, polypropylene, polyacrylate, polyurea, polyvinyl pyrrolidone, polymethyl methacrylate, epoxy, ethyl cellulose, hydroxy propyl cellulose, polyamide, etc.

Οι διαπερατές μεμβράνες εντοπίζονται στα διαδερμικά συστήματα πολλαπλών επιστρώσεων και τύπου δεξαμενής, για τον έλεγχο του ρυθμού αποδέσμευσης του φαρμάκου. Ειδικότερα, η διαπερατή μεμβράνη χρησιμοποιείται με σκοπό το διαχωρισμό των επιμέρους επιστρώσεων και για την παροχή μηχανικής στήριξης. Τα υλικά που επιλέγονται για τις μεμβράνες είναι φυσικά πολυμερή υλικά, συμβατά με τα υπόλοιπα υλικά του διαδερμικού συστήματος. Μάλιστα, σε πολλές περιπτώσεις βρίσκεται σε άμεση επαφή είτε με τη συγκολλητική μεμβράνη ή τη μεμβράνη στήριξης ενώ μπορεί να είναι πορώδη ή συνεχή υλικά. Είναι προφανές ότι ο ρυθμός διαπέρασης του φαρμάκου εξαρτάται από τις φυσικοχημικές ιδιότητες της κάθε μεμβράνης και του φαρμάκου (Rastogi et al., 2012)..

Με σκοπό την ανάπτυξη ενός διαδερμικού αυτοκόλλητου επιθέματος, το **φάρμακο** θα πρέπει να εντοπιστεί με μεγάλη προσοχή. Η δραστική ουσία θα πρέπει να διαθέτει ορισμένες φαρμακολογικές και φυσικές ιδιότητες οι οποίες παρουσιάζονται στον Πίνακα 5 (Rastogi et al., 2012)

Πίνακας 4: Παράγοντες που επηρεάζουν τον υπολογισμό της διαδερμικής δόσης φαρμάκου (Rastogi et al., 2012).

Φυσιοχημικοί	Φαρμακοκινητικοί	Βιολογικοί
Διαλυτότητα	Χρόνος Ημιζωής	Δερμική τοξικότητα
Κρυστάλλωση	Ποσότητα Διάχυσης	Σημείο εφαρμογής
Μοριακό Βάρος	Συνολική Κάθαρση Σώματος	Αλλεργική Αντίδραση
Πολικότητα	Θεραπευτική συγκέντρωση πλάσματος	Μεταβολισμός Δέρματος
Σημείο τήξης	Βιοδιαθεσιμότητα	Διαδερμική Δεισδυτικότητα

Πίνακας 5: Ιδανικές ιδιότητες για τη χορήγηση φαρμάκου μέσω διαδερμικής μεταφοράς (Rastogi et al., 2012)..

Παράμετροι	Ιδιότητες
Δόση	< 20mg/ημέρα
Χρόνος ημιζωής	< 10 ώρες
Μοριακό Βάρος	< 400 Da
Συντελεστής Κατανομής	$1 < \text{LogP}_{(\text{octanol/water})} < 4$
Συντελεστής δεισδυτικότητας δέρματος	$> 0.5 \times 10^{-3}$
Λιποφιλικότητα	$10 < K_{o/w} < 1000$
Στοματική Βιοδιαθεσιμότητα	Χαμηλή
Θεραπευτικός Δείκτης	Χαμηλός

Σημείο τήξης	< 200°C
pH	5 < pH < 9

Μια μακροχρόνια προσέγγιση για τη βελτίωση της διαδερμικής μεταφοράς φαρμάκων είναι η χρήση επιταχυντών διεισδυτικότητας, οι οποίοι αυξάνουν την ικανότητα διείσδυσης στην κεράτινη στοιβάδα, αυξάνοντας, έτσι, το θεραπευτικό αποτέλεσμα του φαρμάκου. Η αλλαγή της πολικότητας μέσω των ενισχυτών προτείνεται με σκοπό την ευκολότερη διείσδυση του φαρμάκου μέσω του δέρματος. Οι μέθοδοι, που χρησιμοποιούνται με σκοπό την τροποποίηση της κεράτινης στοιβάδας, κατηγοριοποιούνται στις χημικές και τις φυσικές. Οι χημικοί ενισχυτές δρουν αυξάνοντας τη θερμοδυναμική δραστηριότητα, το συντελεστή κατανομής και την προώθηση της διάχυσης στη κεράτινη στοιβάδα (Πίνακας 6). Αντίθετα, στους φυσικούς τρόπους ενίσχυσης είναι η ιοντοφόρηση και η χρήση υπερήχων (Rastogi et al., 2012).

Πίνακας 6: Κατηγοριοποίηση των ενώσεων που χρησιμοποιούνται ως επιταχυντές διεισδυτικότητας στα συστήματα διαδερμικής μεταφοράς ουσιών (Rastogi et al., 2012).

Χημική κατηγορία	Ενώσεις
Υδρογονάνθρακες	Alkanes, alkenes, squalene, mineral oil, halogens
Αλκοόλες	Glycerols, glycols, polyglycols, ethanol, caprylic alcohol
Οξέα	Oleic acid, Undecanoic acid and other fatty acids
Αμίνες	Primary, secondary and tertiary, cyclic and acyclic amines
Αμίδια	Pyrrolidone (N-methyl-2-pyrrolidone, 2-pyrrolidon), azones (Azone (1-dodecylazacycloheptan-2-one)), urea
Εστέρες	Isopropyl myristate
Επιφανειοδραστικές ουσίες (ανιοντικές, κατιοντικές, μη-ιοντικές)	Sodium lauryl sulfate, cetyltrimethyl ammonium bromide, sorbitan monolaurate, polysorbate 80, dodecyl dimethyl ammoniopropyl sulfate
Τερπένια, τερπενοειδή και αιθέρια έλαια	Menthol, limonene
Σουλφοξίδια	Dimethyl sulfoxide, dodecyl methyl sulfoxide
Λιπίδια	Phospholipids

Τα πιεσο-ευαίσθητα συγκολλητικά (Pressure-sensitive adhesion, PSA) αποτελούν σημαντικά συστατικά των διαδερμικών συστημάτων γιατί εξασφαλίζουν επαρκή και κατάλληλη επαφή ανάμεσα στο θεραπευτικό επίθεμα και το δέρμα, και επομένως ικανοποιούν μια σημαντική προϋπόθεση για την αποδέσμευση του φαρμάκου. Τα πιεσο-ευαίσθητα συγκολλητικά συμβάλλουν στην προσκόλληση του επιθέματος στο

δέρμα μέσω ελαφριάς δύναμης, το οποίο μπορεί να αφαιρεθεί χωρίς να αφήνει κατάλοιπα. Όταν έρθει σε επαφή το θεραπευτικό σκεύασμα και η επιφάνεια του δέρματος σχηματίζονται διατομικές και διαμοριακές δυνάμεις στην επιφάνεια του. Η προσκόλληση αυτή συνεπάγεται και από την ροή υγρού, με αποτέλεσμα την ενυδάτωση της επιδερμίδας, έπειτα από την εφαρμογή πίεσης. Ωστόσο, έπειτα από την αρχική προσκόλληση, η αλληλεπίδραση PSA/δέρματος μπορεί να ενισχυθεί με ισχυρότερες αλληλεπιδράσεις, όπως συγκόλληση με υδρογέλη. Το PSA πρέπει να είναι συμβατό τόσο με το φάρμακο όσο και τα έκδοχα, η παρουσία των οποίων μπορεί να τροποποιήσει τα μηχανικά χαρακτηριστικά του PSA και το ρυθμό παροχής φαρμάκου. Το PSA αυξάνει τη διεισδυτικότητα του φαρμάκου στην κεράτινη στιβάδα και κατ' επέκταση το θεραπευτικό του αποτέλεσμα (Rastogi et al., 2012).

Η μεμβράνη στήριξης προστατεύει το αυτοκόλλητο επίθεμα από το περιβάλλον. Ιδανικά χαρακτηριστικά είναι η υψηλή ευκαμψία και ελαστικότητα, η σωστή οξυγόνωση, το υψηλό ποσοστό υγρασίας. Επιπλέον, πρέπει να διαθέτει χημική συμβατότητα με τη δραστική ουσία, τα διάφορα έκδοχα, τους επιταχυντές διεισδυτικότητας και το συγκολλητικό. Απαραίτητη θεωρείται η χημική σύνθεση από ανθεκτικά υλικά, ώστε να αποφευχθεί η διάχυση εκδόχων, φαρμάκων και ενισχυτών διείσδυσης (Rastogi et al., 2012).

Η εξωτερική μεμβράνη είναι ένα προστατευτικό φιλμ που εφαρμόζεται κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης και το οποίο αφαιρείται πριν την εφαρμογή του αυτοκόλλητου επιθέματος στο δέρμα. Ανεξαρτήτως του τύπου διαδερμικού συστήματος που θα επιλεγεί, η εξωτερική μεμβράνη θα πρέπει να είναι συμβατή και να μην αλληλεπιδρά με τα υπόλοιπα υλικά του συστήματος ενώ θα πρέπει να μην απορροφά το φάρμακο ή τα άλλα έκδοχα καθώς βρίσκεται σε απευθείας επαφή με το διαδερμικό θεραπευτικό σύστημα (Rastogi et al., 2012).

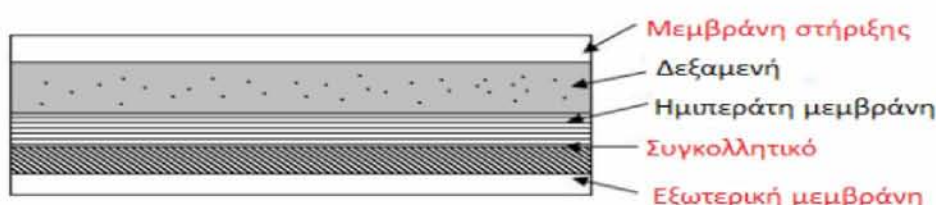
Κατηγορίες διαδερμικών επιθεμάτων

Τα εμπορικά διαθέσιμα διαδερμικά επιθέματα κατηγοριοποιούνται στους τέσσερις ακόλουθους τύπους ανάλογα με το σημείο που εντοπίζεται η δραστική ουσία.

Συστήματα Δεξαμενής

Τα συστήματα δεξαμενής (reservoir devices) αποτελούνται από τη στιβάδα στήριξης

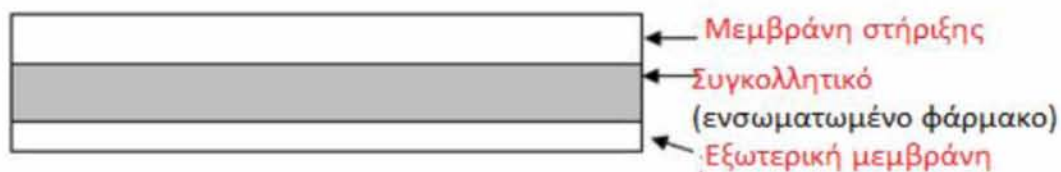
(backing layer), το τμήμα της δεξαμενής του φαρμάκου (drug-containing reservoir), τη διαπερατή μεμβράνη που ελέγχει το ρυθμό αποδέσμευσης (rate-controlling membrane), τη συγκολλητική στιβάδα (adhesive layer) και την εξωτερική μεμβράνη (release liner). Σε αυτό σύστημα διαδερμικού επιθέματος, το φάρμακο εμπεριέχεται σε μια δεξαμενή, μεταξύ της αδιαπέραστης μεμβράνης στήριξης και της διαπερατής μεμβράνης. Το φάρμακο απελευθερώνεται μόνο διαμέσου της μεμβράνης, υπεύθυνη για τον έλεγχο της διάχυσης στην επιφάνεια του δέρματος. Στη δεξαμενή φαρμάκου, το φάρμακο μπορεί να βρίσκεται στη μορφή διαλύματος, εναιωρήματος ή γέλης. Ένα υποαλλεργικό συγκολλητικό πολυμερές εφαρμόζεται είτε ως μια συνεχόμενη στρώση μεταξύ της μεμβράνης και της ετικέτας απελευθέρωσης είτε σε μια ομόκεντρη διαμόρφωση γύρω από τη μεμβράνη (Rani *et al.*, 2011).



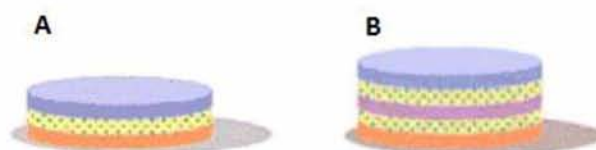
Εικόνα 6: Σύστημα Δεξαμενής (Rani *et al.*, 2011).

Συστήματα ενσωμάτωσης φαρμάκου στη συγκολλητική επιφάνεια

Τα συστήματα στα οποία το φάρμακο ενσωματώνεται στην συγκολλητική στιβάδα (drug – in – adhesive devices) αποτελούνται από τη στιβάδα στήριξης (backing layer), την εξωτερική μεμβράνη (release liner) και τη συγκολλητική στιβάδα όπου είναι ενσωματωμένο το φάρμακο (drug containing adhesive layer) και με τη βοήθεια της οποίας επιτυγχάνεται η προσκόλληση στο δέρμα. Διακρίνονται σε δύο κατηγορίες: τα απλά και τα σύνθετα. Τα συστήματα πολλαπλών επιστρώσεων ή σύνθετα είναι όμοια με τα απλά συστήματα στα οποία το φάρμακο είναι ενσωματωμένο στη συγκολλητική στιβάδα. Η διαφορά εντοπίζεται στο γεγονός ότι τα συστήματα πολλαπλών στρώσεων έχουν άλλη μια συγκολλητική στιβάδα, η οποία διαχωρίζεται από την προηγούμενη με κάποια μεμβράνη (Rani *et al.*, 2011).



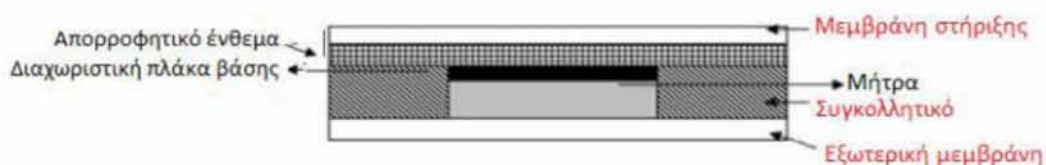
Εικόνα 7: Σύστημα drug – in – adhesive (Rani *et al.*, 2011)..



Εικόνα 8: Α. Μονή στοιβάδα Β. Πολλαπλών στοιβάδων. Τα επιθέματα μονής στοιβάδας περιέχουν την εξωτερική μεμβράνη (πορτοκαλί), τη στοιβάδα στήριξης (μπλε), το φάρμακο (πράσινο), τη συγκολλητική επιφάνεια (κίτρινο). Τα επιθέματα πολλαπλών στοιβάδων περιέχουν και τη μεμβράνη (μωβ) (Rani *et al.*, 2011).

Σύστημα μήτρας

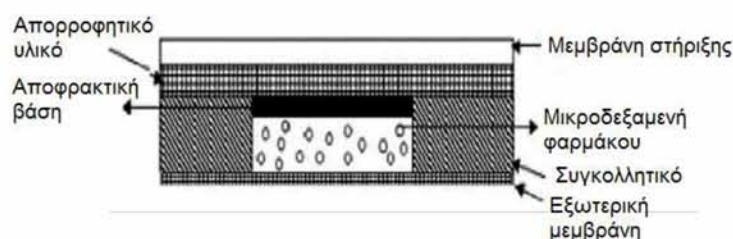
Τα συστήματα μήτρας (matrix devices) γενικά αποτελούνται από τη στιβάδα στήριξης (backing layer), την στιβάδα της μήτρας (matrix layer), τη συγκολλητική στιβάδα (adhesive layer) και την εξωτερική μεμβράνη (release liner). Η φαρμακευτική ουσία κατανέμεται ομοιογενώς ή ενσωματώνεται εντός της μήτρας, δηλαδή της μάζας ημιστερεού πολυμερούς υλικού, και η αποδέσμευση της εξαρτάται από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του φαρμάκου και της μήτρας. Αντίθετα, από το σύστημα ενσωμάτωσης φαρμάκου στη συγκολλητική επιφάνεια, η συγκολλητική επιφάνεια περιβάλλει ολόκληρη τη μήτρα, όπως φαίνεται στο σχήμα (Rani *et al.*, 2011).



Εικόνα 9: Σύστημα μήτρας (Rani *et al.*, 2011).

Σύστημα μικροδεξαμενής

Τα τελευταία χρόνια, έχει αναπτυχθεί ένα σύστημα που συνδυάζει το σύστημα δεξαμενής και του συστήματος της μήτρας, το σύστημα μικροδεξαμενής. Η δεξαμενή φαρμάκου σχηματίζεται με την εναιώρηση του φαρμάκου σε υδατικό διάλυμα υδατοδιαλυτού πολυμερούς και στη συνέχεια το διάλυμα διασπείρεται σε ένα λιπόφιλο πολυμερές με σκοπό το σχηματισμό χιλιάδων μικροσκοπικών σφαιριδίων-δεξαμενών (Rastogi *et al.*, 2012).



Εικόνα 10: Σύστημα μικροδεξαμενής (Rani *et al.*, 2011).

Ασφάλεια διαδερμικής χορήγησης

Το *Hypericum perforatum* είναι ένα από τα εκτενώς μελετημένα φαρμακευτικά φυτά σε σχέση με την αποτελεσματικότητα, την τοξικότητα και την ασφάλεια. Τοξικολογικές έρευνες σε αρουραίους, γουρούνια και ποντίκια έδειξαν ότι το εκχύλισμα του φυτού θεωρείται σχετικά μη τοξικό και ο ασθενής δεν αντιμετωπίζει κανένα κίνδυνο. Πιθανές παρενέργειες της διαδερμικής χορήγησης του *Hypericum perforatum* είναι ο ερεθισμός ή η φωτοευαισθησία, παρ' όλου του ότι οι κλινικές μελέτες το ταξινομούν ως χαμηλού επιπέδου κινδύνου. Κλινικές έρευνες σχετικά με την αλληλεπίδραση της υπερφορίνης με άλλα φάρμακα αναφέρουν ότι αλληλεπιδρά (επάγει) υποτύπους του κυτοχρώματος P450, συμβάλλοντας στον ταχύτερο μεταβολισμό των φαρμάκων. Ωστόσο, εξαιτίας της χαμηλής συγκέντρωσης της φαρμακευτικής ουσίας στο πλάσμα, όταν χρησιμοποιείται διαδερμικά, οι αναφερόμενες ανεπιθύμητες παρενέργειες θεωρούνται αμελητέες. Τέλος, το *Hypericum perforatum* δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται από έγκυες γυναίκες και μητέρες που θηλάζουν, όπως και από παιδιά ηλικίας κάτω των 18 ετών. (Wolfe *et al.*, 2013).

Κλείνοντας το βιολογικό μέρος της εργασίας, μολονότι επιβεβαιώθηκε η αντιφλεγμονώδη και αναλγητικών δράση ορισμένων δραστικών του *Hypericum perforatum*, δεν έχει τεκμηριωθεί πλήρως η καθορισμένη ποσότητα αυτών και δεν

έχει αξιολογηθεί το αποτέλεσμα και σε ανθρώπους. Η ποσότητα των ενώσεων που θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν να μην επιτρέπουν την εισαγωγή σε ένα αυτοκόλλητο επίθεμα. Συνεπώς, η έρευνα βρίσκεται σε πολύ πρώιμο στάδιο, με σημαντικές ελλείψεις σε δεδομένα καίριας σημασίας για την εξέλιξη του προϊόντος.

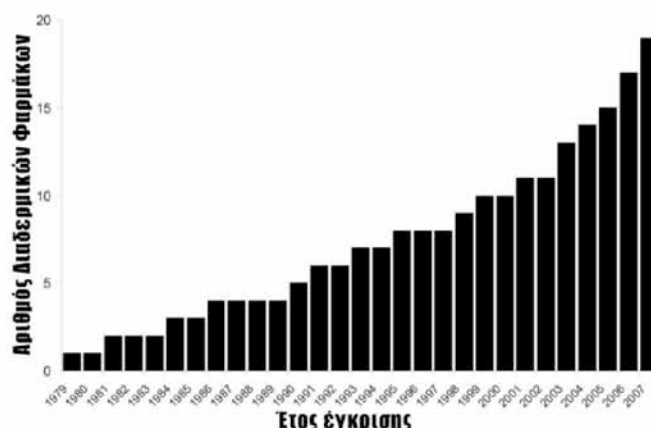
Διερεύνηση Αγοράς

Περιγραφή προϊόντος

Η παρούσα μελέτη προσανατολίζεται με σκοπό την κατασκευή ενός ιατροτεχνολογικού προϊόντος, ειδικότερα αυτοκόλλητου επιθέματος, για την αντιμετώπιση της φλεγμονής και του πόνου. Οι δραστικές ενώσεις του επιθέματος περιλαμβάνουν την υπερφορινή, την υπερκίνη και τα παράγωγα αυτών και όχι εκχύλισμα του φυτού. Το άοσμο προϊόν σχεδιάζεται με σκοπό την αντιμετώπιση του πρηξίματος και του πόνου που ακολουθεί μια φλεγμονώδη αντίδραση σε άτομα που έχουν είτε πρόσφατα υποβληθεί σε εγχειρητικές επεμβάσεις είτε αντιμετωπίζουν ελαφρώς μέχρι σοβαρή κάκωση σε σημεία του σώματος όπως ο αστράγαλος, το γόνατο και η σπονδυλική στήλη.

Η Αγορά

Η παγκόσμια αγορά των φαρμάκων διαδερμικής χορήγησης αξιολογήθηκε στα 5.6 δισεκατομμύρια δολάρια το 2009, με την πλειοψηφία των πωλήσεων να προέρχεται από πρώτης γενιάς τεχνολογίες επιθεμάτων, η οποία περιλαμβάνει μικρά μόρια, λιπιδικής σύστασης με χαμηλή συγκέντρωση φαρμάκου (<http://www.thepharmajournal.com>). Η παγκόσμια αγορά πωλήσεων αναμένεται να αυξηθεί από το 2018 έως 2023 με ετήσιο ρυθμό 2.4% και αναμένεται να φθάσει τα 137 δισεκατομμύρια δολάρια μέχρι το 2024, με την Ανατολική Ασία να εξελίσσεται γρηγορότερα. Χαρακτηριστικό αποτελεί το γεγονός ότι από το 1979 όπου εγκρίθηκε το πρώτο φαρμακευτικό σκεύασμα διαδερμικής μεταφοράς, παρατηρείται ένας συνεχώς αυξανόμενος αριθμός εγκρίσεων, όπως φαίνεται στο Σχήμα 8.



Σχήμα 8: Συνολικός αριθμός φαρμάκων διαδερμικής μεταφοράς που εγκρίθηκαν από το 1979 έως το 2007 (<http://www.thepharmajournal.com>)

Περισσότερο από 50% των πωλήσεων της διαδερμικής μεταφοράς επιθεμάτων παγκοσμίως αφορά καταστάσεις οξείας ή χρόνιας αναλγησίας. Ειδικότερα, η παγκόσμια αγορά για επιθέματα αναλγησίας έχει αυξηθεί σημαντικά χάρη στην υψηλή ζήτηση και την ευρεία αποδοχή των γιατρών και των ασθενών (<https://www.mpro-mag.com>).

Όσον αφορά τις πωλήσεις του *Hypericum perforatum*, φαίνεται να μειώνονται δραματικά με το πέρασμα των ετών. Εξετάζοντας τα γεγονότα χρονικά, το 1998, το *Hypericum perforatum* στις Ηνωμένες Πολιτείες άνηκε στην κατηγορία των φυσικών συμπληρωμάτων διατροφής με τις υψηλότερες πωλήσεις. Έκτοτε οι πωλήσεις αυτού μειώνονται, λόγω των αλληλεπιδράσεων με άλλα φάρμακα και των ενδοιασμών σχετικά με τις αντικαταθλιπτικές ιδιότητες του, για τις οποίες κέρδισε και το επιστημονικό ενδιαφέρον. Αναπόφευκτα, ο υψηλός αριθμός νοθευμένων σκευασμάτων, αγνώστου προέλευσης που κυκλοφορούν στο εμπόριο, δυσχεραίνουν την ανοδική τάση στις πωλήσεις, καθιστώντας γιατρούς και ασθενείς δύσπιστους (<http://cms.herbalgram.org>). Ειδικότερα, πρόσφατες έρευνες του Consumer Lab αναφέρουν ότι 6 στα 10 σκευάσματα αποτυγχάνουν το δυνητικό θεραπευτικό αποτέλεσμα, λόγω χαμηλών συγκεντρώσεων των χαρακτηριστικών βιοδραστικών ενώσεων του φυτού. Ωστόσο, ο Οργανισμός Φαρμάκων και Τροφίμων της Αμερικής εξακολουθεί να κατατάσσει το *Hypericum perforatum* ως ένα από τα δημοφιλέστερα φαρμακευτικά φυτά με ετήσιες πωλήσεις 57 εκ. δολάρια (<https://www.newsmax.com>).

Ανάλυση Ανταγωνισμού

Έπειτα από την ανασκόπηση της αγοράς, πραγματοποιήθηκε ενδελεχής έρευνα σχετικά με ανταγωνιστικά προϊόντα που κυκλοφορούν μόνο στην ελληνική αγορά φαρμάκων. Η ανάλυση αξιολογήθηκε σε δύο μέρη: του άμεσου ανταγωνισμού όπου εξετάστηκαν προϊόντα, διαδερμικά συστήματα μεταφοράς φαρμάκων και εκείνου του έμμεσου ανταγωνισμού που καταγράφηκαν υποκατάστατα προϊόντα, όπως τζελ, κρέμες, αλοιφές και σπρέϊ στην ελληνική αγορά.

Άμεσος Ανταγωνισμός

Η έρευνα του άμεσου ανταγωνισμού αξιολόγησε και κατέγραψε 15 προϊόντα που κυκλοφορούν στην ελληνική αγορά όπως παρουσιάζεται στο παρακάτω Πίνακα 7. Αξίζει να σημειωθεί ότι στο εμπόριο κυκλοφορούν πλήθος επιθεμάτων που βασίζονται σε τεχνολογίες που ψύχουν ή θερμαίνουν την περιοχή, μειώνοντας τον πόνο, χωρίς ωστόσο καμία συμβολή ενάντια στη φλεγμονή (δεν καταμετρήθηκαν). Ορισμένα συμπεράσματα που αξίζει να εξάγουμε από την ανασκόπηση είναι ότι: η μέση τιμή των αυτοκόλλητων επιθεμάτων που συναντάμε στο εμπόριο είναι 2 ευρώ ανά τεμάχιο, περίπου το 50 τοις εκατό των προϊόντων κυκλοφορούν σε συσκευασίες των δύο τεμαχίων, 11 προϊόντα εμπεριέχουν έστω μια συμβατική φαρμακευτική ένωση, γνωστή για τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες της, ενώ 3 περιέχουν φυσικά εκχυλίσματα φυτών.

Η έρευνα του άμεσου ανταγωνισμού κατέγραψε ανταγωνιστικά προϊόντα που περιέχουν τόσο συμβατικές δραστικές ενώσεις όσο και εκχυλίσματα φυτών. Ειδικότερα, στα συμβατικά φαρμακευτικά προϊόντα που κυκλοφορούν στο εμπόριο σχεδόν το 20% των προϊόντων περιέχουν δικλοφαινάκη, ένα μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες, με τόσο αναλγητική και αντιφλεγμονώδη δράση. Στην ίδια κατηγορία εντάσσεται και το σαλικυλικό μεθύλιο, μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες, υπεύθυνο για την ανακούφιση των συμπτωμάτων του πόνου και τη ταχύτατη απορρόφηση. Συναντάμε αυτοκόλλητα επιθέματα με το συνδυασμό θειική γλυκοζαμίνης και χονδροϊνίνης για την αντιμετώπιση περιπτώσεων αρθρώσεων και την οστεοαρθρίτιδα. Όσον αφορά, τα κύρια φυσικά εκχυλίσματα που χρησιμοποιούνται σε επιθέματα είναι το εκχύλισμα από το αρπαγόφυτο (*H. procumbens*), την ιτιά (*S.Alba*), την άρνικα (*A.montana*) και τη μέντα (*M.arvenensis*).

Πίνακας 7: Ανασκόπηση των προϊόντων διαδερμικής μεταφοράς που κυκλοφορούν στην ευρωπαϊκή αγορά φαρμάκων.

Προϊόν/ Brand	Εταιρία	Δραστικές ενώσεις	Τιμή / ΤΜΧ
Discoplast	Agelini	Diclofenac	2 €
Betatape	Faran	Betamethasone	1,74 €
Voltadol	Novartis	Diclofenac	2,5 €
Salonpas	Vianex	Methyl Salicylate, Menthol, Camphor, Tocopheryl acetate	2,1 €
Επίθεμα για τον πόνο	Pharmasept	Devil's claw, Arnica, Willow tree	1,5 €
Θεραπευτικό Έμπλαστρο Άρνικας	Stirixis	Devil's claw, Arnica, Willow tree	2,5 €
Jointace Patch	Vitabiotics	Glucosamine, Chondroitin	1,4 €
Counterplast	Pharmaswiss	Menthol, Essences: Mint, Thyme	2,2 €
Voltarol Medicated Plaster	Voltarol	Diclofenac	0,7 €
Flector patch	Pfizer	Diclofenac	6 €
Pain Relief Patch	Luminas	Arnica, B-Complex, Magnesium, Turmeric, Bioperine, Ginger, Vitamin D	1,3 €
Pain Relief Patch	Pure Aid	Camphor, Menthol, Methyl-salicylate	0,9 €
Pain Relief Patch	Absorbine jr. PLUS	Menthol	5 €
Panaxflex	gsk	Glycol Salicylate, L-Menthol, DL- Camphor, Vitamin E	1.6 €

Έμμεσος ανταγωνισμός

Η ανασκόπηση της αγοράς των υποκατάστατων προϊόντων (έμμεσος ανταγωνισμός) για την μείωση των συμπτωμάτων φλεγμονής και πόνου αξιολογήθηκε σε κρέμες, τζέλ και αλοιφές. Συνολικά, καταγράφηκαν 40 προϊόντα, που παρουσιάζονται στον παρακάτω Πίνακα 8. Η τιμή αυτών προσδιορίστηκε κατά προσέγγιση στα 15.2 ευρώ ανά 100ml συσκευασίας προϊόντος.

Τα αποτελέσματα, όπως αναλύονται στον πίνακα 8, παρουσιάζουν μια ποικιλία φυτικών εκχυλισμάτων για την αντιμετώπιση των συμπτωμάτων φλεγμονής και πόνου. Ειδικότερα, ένα μεγάλο ποσοστό, που ξεπερνά τα μισά από τα προϊόντα που καταγράφηκαν, χρησιμοποιεί εκχύλισμα άρνικας (*A. montana*), γνωστό από την υπάρχουσα βιβλιογραφία για τις αναλγητικές ιδιότητες τους. Η μενθόλη, που απομονώνεται από τη μέντα (*M. arvensis*), προκαλεί ένα τοπικό αίσθημα κρύου στην περιοχή και συμβάλλει στην ταχύτερη απορρόφηση των δραστικών ουσιών. Αξίζει να σημειωθεί, ότι το εκχύλισμα αρπαγόφυτου (*H. procumbens*) συναντάται στο 20% των προϊόντων της ελληνικής αγοράς, χάρη στις ισχυρές αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες του.

Είτε εκχύλισμα είτε έλαιο ευκαλύπτου (*E. Globulus*) χρησιμοποιείται ευρέως από τα κυκλοφορούντα προϊόντα της φαρμακευτικής αγοράς, χάρη στις αναλγητικές ιδιότητες όσον αφορά μυϊκό πόνο και πόνο στις αρθρώσεις. Επιπρόσθετα, το εκχύλισμα ιτιάς (*S.Alba*), λόγω της παρουσίας φυτικού σαλικυλικού οξέος και των παραγώγων αυτού, δρα ως αντιφλεγμονώδες ιδιοτήτων και το συναντάμε σε αρκετά προϊόντα. Η καμφορα (*C. Camphora*) βοηθά στην καταπολέμηση της φλεγμονής, δρώντας ως αντιερεθιστικό, μουδιάζοντας τα περιφερειακά αισθητήρια νεύρα και ζεσταίνοντας την περιοχή, την καθιστά αποτελεσματική για αρθρικά και ρευματισμούς. Αξίζει να σημειωθεί ότι στη φαρμακευτική αγορά, κυκλοφορούν πληθώρα φαρμακευτικά σκευάσματα με καψαϊκίνη (*C. annuum*), ουσία που μολονότι συμβάλλουν στη μείωση του πόνου και στην αίσθηση θερμότητας της περιοχής, δεν κατέχουν κάποιο θεραπευτικό ρόλο στην ίδια τη φλεγμονή, οπότε αυτά απορρίφθηκαν και δεν συμπεριλήφθηκαν στη λίστα (Σχήμα 10).

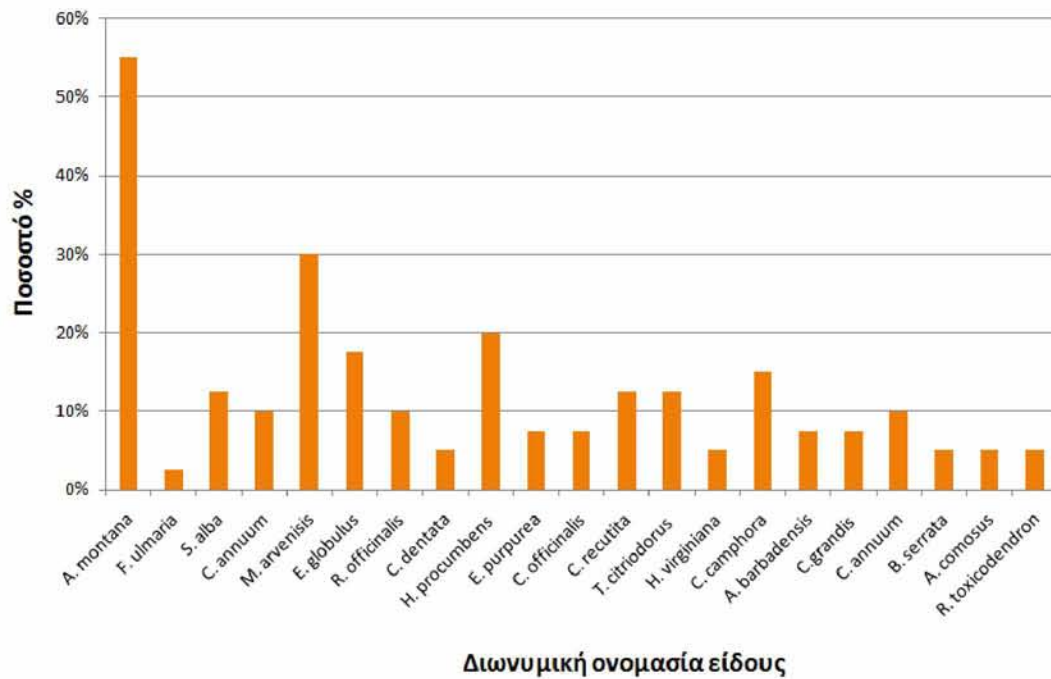
Σε σκευάσματα της αγοράς, πέρα από τα φυτικά εκχυλίσματα, τη σύσταση των προϊόντων συμπληρώνουν βιταμίνες όπως οι Βιταμίνες E, D και ιχνοστοιχεία Mg, Zn, Cu, Fe, Ca για την ενυδάτωση του δέρματος και την προστασία της ευαίσθητης επιδερμίδας από τις ευκαιριακές λοιμώξεις. Επίσης, ορισμένα ανταγωνιστικά προϊόντα της αγοράς εμπεριέχουν δραστικές ενώσεις όπως το συνδυασμό γλυκοζαμίνης, η θειικής χονδροϊτίνης και μεθυλοσουλφονυλομεθάνιο, ιδανικό για τη θεραπεία των αρθρώσεων και σε περιπτώσεις συμπτωματικής οστεοαθρίτιδας.

Πίνακας 9: Υποκατάστατα προϊόντα (τζελ, κρέμες, αλοιφές) που κυκλοφορούν στην ελληνική αγορά για την αντιμετώπιση πόνου προέρχεται από φλεγμονή.

Προϊόν/ Brand	Εταιρία	Δραστικές ενώσεις
Bioatrox Cream	Bema Bio Eco Pharma Line	Arnica, Meadowsweet, Willow bark, Extra virgin Olive Oil, Soybean Oil, Karite butter, Vitamin E
Osteoflex	Pharmacenter	Glucosamine, Chondroitin, Menthol, Sodium hydroxide, Phenoxyethanol, Methyl salicylate
Jointace	Vitabiotics	Glucosamine, Chondroitin, Menthol, Essences: Ginger, Eucalyptus, Orange, Clove, Levender, Fennel
Arnica Cream	Health Aid	Arnica
FastumCare	Menarini	Escin, Bromelain, Boswellia, Troxerutin, Menthol
SportGel	Euromed	Arnica Montana, Echinacea purpurea, Mentha Arvenensis, Hamamelis Virginiana
Tol Velvet Freezing Power Gel	Pharmasept	Ilex Paraguarensis, Arnica extract, Devil's Claw, Menthol
Apivita Herbal Greme Gel	Apivita	Arnica
Arnicare	Nelsons	Arnica
Myogel	Most Active	Arnica, Menthol
Traumeels	Heel	Arnica Montana, Calendula officinalis, Hamamelis virginiana, Echinacea angustifolia, Echinacea purpurea, Chamomilla recutita, Symphytum officinale, Bellis perennis, Bellis perennis, Achillea millefolium, Hypericum perforatum , Aconitum napellus, Atropa belladonna, Mercurius solubilis Hahnemanni, Hepar sulfuris
SportGel	DexSil Pharma	Glucosamine, Chondroitin, Camphor, Menthol, Essences: Glitters, Laurel
Arnica Bio Cream	Aboca	Arnica, Mint
Ice Gel	Krauterhof	Horse chesnut, Arnica, Rosemary, Champhor
PC	Cosval	Devil's claw, Arnica, Perna canaliculus, Essences: Lemon, Thyme, Levender, Orange
Ervadol	Synapse	Devil's claw
Ultra RX-Joint Crea	NaturesPlus	Glucosamine, Chondroitin, Methylsulfonylmethane
Nodol Cream	ESI	Dimethyl sulfone, Glucosamine sulphate, Isopropyl palmitate, Prunus dulcis, Butyrospermum parkii, Harpagophytum procumbens, Salix alba, Aloe barbadensis, Arnica montana, Tocopheryl acetate
Herbal Sport Gel	Rowo	Peppermint oil, arnica, echinacea, chamomile and witch hazel
Recovery Gel	Kronolene	Hyaluronic Acid, Arnica, Calendula, Horse Chestnut and Minerals (Mg, Zn, Cu, Fe, Ca)
Arnica Gel	ag Pharma	Arnica Montana, Hyaluronic Acid
Horse Balsam	Herbamedicus	Comfrey, Juniper, Chestnut, Mountain arnica, Scots Pine, Fir, Blueberry, Scrub pine, Heather, Eucalyptus, Camphor, Marigold, Chamomile, Baical skullcap, Thyme, Peppermint, Lavender, Purple coneflower, Lemon extract, Agrimony, Rosemary, Snake-root, Ginkgo biloba, Black currant, Grapefruit extract
Arnica ointment	Heilusan	Arnica
Arnica Gel	Pro Natura	Arnica oleum
Flexi forte gel	Euromed	Devil's claw
Dexsil Joints	DexSil Pharma	Glucosamine, Chondroitin, Methylsulfonylmethane
Crevil Arthrits Crèm	Viogenesis	Menthol, Eucalyptus Oil, Methyl salicylic acid, Pine Oil, Camphor Oil

4action Hot Gel	Pharmanet	Menthol, Camphor, Thyme, Eucalyptus Oil, Rosemary, Mint, Chamomile
Dolaren Emulgel	Erbagil	Boswellia Serrata, Bromelain, Devil's claw, Arnica Montana, Ribes Nigrum, Glucosamine, Chondroitin
Arthrigel	Power health	Glucosamine, Chondroitin, Devil's claw, Marjoram, Acacia collagen, Rush, Goldenrod, Lemon, Aloe vera, Grapefruit Oil
Zeel	Heel	Arnica montana, Calendula officinalis, Hamamelis virginiana, Chamomilla recutita, Acidum DL-alpha liponicum, Acidum silicicum, Arnica montana, Cartilago suis, Coenzym A, Embryo totalis suis, Funiculus umbilicalis suis, Nadidum, Natrium diethyloxalaceticum, Placenta totalis suis, Rhus toxicodendron, Sanguinaria canadensis, Solanum dulcamara, Sulfur, Symphytum officinale.
Relief & Relax	kaloe	Aloe Vera, Camphor, Menthol, Allantoin, Capsicum, Eucalyptus Oil, Thyme Oil, Rosemary Oil
Arnica gel	Ἴαμα	Arnica montana
Leni Complex	Specchiasol	Devil's claw, Incense, Capsicum
Λάδι Ἀρνίκας	Ofelimo	Arnica
Arnica Freeze	Cooper	Arnica
Joint support Crear	Now	Water (Aqua), Glyceryl Stearate SE, Methyl Salicylate (natural), Caprylic/Capric Triglyceride, Glucosamine HCl (shellfish), Glycerin, Cetearyl Alcohol, Boswellia Serrata Gum Extract, Squalane, Stearic Acid (vegetable source), Carthamus Tinctorius (Safflower) Seed Oil, Tocopherol (Vitamin E) (soy), Xanthan Gum, Citrus Grandis (Grapefruit) Seed Extract, Potassium Sorbate, Capsaicin, Ascorbyl Palmitate (Vitamin C), Retinyl Palmitate (Vitamin A), Natural Hinokitiol.
Montbrun	Alphanova	Aqua, Alcohol, Glycerin, Menthol, Cinnamomum, Camphor Bark Oil, Carrageenan, Gaultheria Procumbens Leaf Oil, Harpagophytum Procumbens Root Extract, Salix Alba Bark Extract, Eucalyptus Globulus Oil, Helianthus Annuus Seed Oil, Daucus Carota Sativa Root Extract, Polylysine, Citric Acid, Xanthan Gum, Benzyl Alcohol, Decyl Glucoside, Sodium Benzoate, Potassium Sorbate, Limonene
Capsicum & Menta	Panacea	Capsicum, Thyme, Mint, Eucalyptus, Champhor, Rosemary, Aloe Vera
Arnica	Menthogel	Arnica

Φυτικά εκχυλίσματα σε υποκατάστατα προϊόντα



Σχήμα 10: Ανασκόπηση της ελληνικής αγοράς σχετικά με τα φυτικά εκχυλίσματα που χρησιμοποιούνται σε 40 υποκατάστατα προϊόντα (κρέμες, αλοιφές και τζελ), για την μείωση της φλεγμονής και των συμπτωμάτων του πόνου.

Συμπεράσματα

Στην παρούσα διπλωματική εργασία περιγράφηκε η αντιφλεγμονώδη και αναλγητική δράση των δραστικών ενώσεων του *Hypericum perforatum*. Αναλυτικότερα, αφού πραγματοποιήθηκε καταγραφή των δραστικών ενώσεων, εντοπίστηκαν οι ιδιότητες αυτών στην καταπολέμηση της φλεγμονής και του πόνου και αξιολογήθηκαν τα αποτελέσματα. Επιπρόσθετα, εντοπίστηκαν και καταγράφηκαν τα ιδανικά χαρακτηριστικά μιας ένωσης διαδερμικής μεταφοράς και οι δυσκολίες που αντιμετωπίζει σε θέματα διεισδυτικότητας. Στη συνέχεια, αντιλαμβανόμενοι το κενό της αγοράς σχετικά με αντιφλεγμονώδη επιθέματα, με δραστικές ενώσεις από το φαρμακευτικό φυτό *Hypericum perforatum*, πραγματοποιήθηκε ανασκόπηση της αγοράς και του άμεσου/ έμμεσου ανταγωνισμού.

Η παραπάνω μελέτη ανέλυσε τις αντιφλεγμονώδης και αναλγητικές ιδιότητες συγκριμένων ενώσεων του *Hypericum perforatum*, μέσα από αξιολόγηση των μηχανισμών της φλεγμονής και του πόνου και επισήμανε εκείνες τις ενώσεις που συμβάλλουν στο επιθυμητό αποτέλεσμα. Το σημαντικότερο είναι ότι μέσα από την παρούσα μελέτη υπογραμμίσθηκαν και τονίσθηκαν οι δυσκολίες και τυχόν προβλήματα που πρέπει να ξεπεραστούν με σκοπό την παρασκευή ενός τελικού προϊόντος, που αφενός πριν την μελέτη ίσως έμοιαζαν πανάκεια.

Τα μελλοντικά βήματα που πρέπει να πραγματοποιηθούν είναι πολλά και ακανθώδη. Αρχικά, θα πρέπει να ληφθούν ακριβής και πλήρως τεκμηριωμένα οικονομικά στοιχεία, έρευνα αγοράς και αξιολόγηση αυτών, ώστε να εξακριβωθεί το κενό της αγοράς που η παρούσα έρευνα εντοπίζει από κάποια συμβουλευτική εταιρία. Στη συνέχεια, θα πρέπει βρεθεί ο παραγωγός που θα προμηθεύει το φαρμακευτικό φυτό και να αξιολογηθούν οι βέλτιστες τεχνικές με σκοπό την ανάκτηση υψηλών συγκεντρώσεων των δραστικών, ειδικότερα εκείνων της υπερφορίνης και υπερικίνης. Άλλωστε, τονίσαμε, την διακύμανση των συγκεντρώσεων που παρατηρείται στο «ακατέργαστο» φάρμακο και έλαιο, όσον αφορά περιβαντολλογικών παραγόντων. Επιπρόσθετα, θα πρέπει να αξιολογηθούν οι αντιφλεγμονώδης και αναλγητικές ιδιότητες των δραστικών ενώσεων του *Hypericum perforatum* και σε ανθρώπους, διότι οι εργαστηριακές μελέτες αναφέρονται μόνο σε αρουραίους. Ας μην αμελούμε, το γεγονός ότι δεν είναι λίγες οι φορές, που τα αποτελέσματα δεν είναι τα ίδια σε ζώα και ανθρώπους. Αφότου, εντοπιστούν οι θεραπευτικές ιδιότητες, θα πρέπει να υπολογιστούν οι ακριβής ποσότητες, κατά πόσο οι ποσότητες αυτές μπορούν να εισαχθούν σε ένα επίθεμα και οι πιθανές παρενέργειες των ποσοτήτων σε ενήλικα

άτομα. Επιπλέον, αφού καθοριστεί πια εκ των προτεινόμενων κατηγοριών επιθέματος θα χρησιμοποιηθεί, θα πρέπει να αξιολογηθεί πλήρως η φαρμακοτεχνική μορφή με τεκμηρίωση των ποσοτήτων τόσο δραστικών του *Hypericum perforatum* και των εκδόχων, ώστε να διαθέτει επαρκές θεραπευτικό αποτέλεσμα χωρίς τυχόν αλληλεπιδράσεις. Πιθανό ενδεχόμενο αποτελεί η ενίσχυση της θεραπευτικής του δράση και με άλλες δραστικές ενώσεις, όπως αυτές που προτείνονται στην ανάλυση του ανταγωνισμού. Στη συνέχεια, θα πρέπει να γίνει έρευνα αναφορικά με την εταιρία παραγωγής του προϊόντος και συνολική κοστολόγηση αυτού. Πρέπει το τελικό προϊόν, να μπορεί να ανταγωνιστεί τα ήδη κυκλοφορούντα στην αγορά όχι μόνο όσον αφορά το θεραπευτικό αποτέλεσμα από τη χρήση του αλλά και στην τιμή. Εφόσον, όλα τα παραπάνω πραγματοποιηθούν επιτυχώς, θα πρέπει να καταγραφούν όλα τα απαραίτητα στοιχεία σε ένα business plan και να σχεδιαστεί φάκελος προς έκκριση στον Εθνικό Οργανισμό Φαρμάκων (Ε.Ο.Φ).

Βιβλιογραφία

Abdel-Salam OM. Anti-inflammatory, antinociceptive, and gastric effects of *Hypericum perforatum* in rats. The scientific world Journal. 2005;5:586-95.

Agapouda A, Booker A, Kiss T, Hohmann J, Heinrich M, Csupor D. Quality control of *Hypericum perforatum* L. analytical challenges and recent progress. The Journal of pharmacy and pharmacology. 2017.

Barnes J. Herbal medicine in primary care. Complementary therapies in medicine. 2000;8(2):127-8.

Bharadwaj S, Garg V, K Sharma P, Bansal M, Kumar N. RECENT ADVANCEMENT IN TRANSDERMAL DRUG DELIVERY SYSTEM 2019.

Cao X, Wang Q, Li Y, Bai G, Ren H, Xu C, et al. Isolation and purification of series bioactive components from *Hypericum perforatum* L. by counter-current chromatography. Journal of chromatography B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences. 2011;879(7-8):480-8.

Coppock RW, Dziwenka M. Chapter 45 - St. John's Wort. In: Gupta RC, editor. Nutraceuticals. Boston: Academic Press; 2016. p. 619-31.

Crockett SL. Essential oil and volatile components of the genus *Hypericum* (Hypericaceae). Natural product communications. 2010;5(9):1493-506.

Derun EM, Eslek Z, Piskin S. Extraction and Analysis of *Hypericum perforatum* L. from Turkey. International Journal of Engineering, Chemical, Molecular, Nuclear, Materials and Metallurgical. 2013;7(7):495-9.

Dhiman S, Singh TG, Rehni AK. Transdermal patches: A recent approach to new drug

delivery system 2011. 26-34 p.

Dhingra AK, Chopra B, Dua JS, Parsad DN. New insight on inflammation and its management: A Review.

Dickenson AH. Mechanisms of the analgesic actions of opiates and opioids. British medical bulletin. 1991;47(3):690-702.

Field HL, Monti DA, Greeson JM, Kunkel EJ. St. John's Wort. International journal of psychiatry in medicine. 2000;30(3):203-19.

Galeotti N. Hypericum perforatum (St John's wort) beyond depression: A therapeutic perspective for pain conditions. Journal of ethnopharmacology. 2017;200:136-46.

Greeson JM, Sanford B, Monti DA. St. John's wort (Hypericum perforatum): a review of the current pharmacological, toxicological, and clinical literature. Psychopharmacology. 2001;153(4):402-14.

Hammer KD, Hillwig ML, Solco AK, Dixon PM, Delate K, Murphy PA, et al. Inhibition of prostaglandin E(2) production by anti-inflammatory hypericum perforatum extracts and constituents in RAW264.7 Mouse Macrophage Cells. Journal of agricultural and food chemistry. 2007;55(18):7323-31.

Jensen AG, Hansen SH, Nielsen EO. Adhyperforin as a contributor to the effect of Hypericum perforatum L. in biochemical models of antidepressant activity. Life sciences. 2001;68(14):1593-605.

Klemow KM, Bartlow A, Crawford J, Kocher N, Shah J, Ritsick M. Medical Attributes of St. John's Wort (Hypericum perforatum). In: nd, Benzie IFF, Wachtel-Galor S, editors. Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis LLC.; 2011.

Koeberle A, Rossi A, Bauer J, Dehm F, Verotta L, Northoff H, et al. Hyperforin, an anti-inflammatory constituent from St. John's wort, inhibits microsomal prostaglandin E2 synthase-1 and suppresses prostaglandin E2 formation in vivo. Frontiers in pharmacology. 2011;2:7.

Kumar V, Singh PN, Bhattacharya SK. Anti-inflammatory and analgesic activity of Indian Hypericum perforatum L. Indian journal of experimental biology. 2001;39(4):339-43.

Li Y, Cao X. Isolation and characterization of furohyperforin from hypericum perforatum L. by high-speed countercurrent chromatography. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies. 2012;35(18):2558-66.

Nohrstedt HO. Biological activity in soil from forest stands in Central Sweden, as related to site properties. Microbial ecology. 1985;11(3):259-66.

Patocka J. The chemistry, pharmacology, and toxicology of the biologically active constituents of the herb Hypericum perforatum L 2003.

Raso GM, Pacilio M, Di Carlo G, Esposito E, Pinto L, Meli R. In-vivo and in-vitro anti-inflammatory effect of Echinacea purpurea and Hypericum perforatum. The Journal of pharmacy and pharmacology. 2002;54(10):1379-83.

Rastogi V, Yadav P. Transdermal drug delivery system: An overview. Asian Journal of Pharmaceutics (AJP): Free full text articles from Asian J Pharm. 2014;6(3).

Riccioni G, Bucciarelli T, Mancini B, Di Ilio C, D'Orazio N. Antileukotriene drugs: clinical application, effectiveness and safety. Current medicinal chemistry. 2007;14(18):1966-77.

Sherwood ER, Toliver-Kinsky T. Mechanisms of the inflammatory response. Best practice & research Clinical anaesthesiology. 2004;18(3):385-405.

Silva ACRd, Lopes PM, Azevedo MMBd, Costa DCM, Alviano CS, Alviano DS. Biological activities of α -pinene and β -pinene enantiomers. Molecules. 2012;17(6):6305-16.

Smelcerovic A, Spiteller M, Zuehlke S. Comparison of methods for the exhaustive extraction of hypericins, flavonoids, and hyperforin from *Hypericum perforatum* L. Journal of agricultural and food chemistry. 2006;54(7):2750-3.

Sosa S, Pace R, Bornancin A, Morazzoni P, Riva A, Tubaro A, et al. Topical anti-inflammatory activity of extracts and compounds from *Hypericum perforatum* L. The Journal of pharmacy and pharmacology. 2007;59(5):703-9.

Stamenković J, Radojković I, Đorđević A, Jovanović O, Petrović G, Stojanović G. Optimization of HPLC method for the isolation of *Hypericum perforatum* L. methanol extract. Biologica Nyssana. 2013;4(1-2).

Velazquez KT, Mohammad H, Sweitzer SM. Protein kinase C in pain: involvement of multiple isoforms. Pharmacological research. 2007;55(6):578-89.

Yildirim M, Allahverdiyev O, berköz m. Investigation of the effect of hyperforin and hypericin on inflammatory response in RAW 264.7 macrophages 2017.

Zdunić G, Gođevac D, Milenković M, Vučićević D, Šavikin K, Menković N, et al. Evaluation of *Hypericum perforatum* oil extracts for an antiinflammatory and gastroprotective activity in rats. Phytotherapy research. 2009;23(11):1559-64.

Zobayed SMA, Afreen F, Goto E, Kozai T. Plant–Environment Interactions: Accumulation of Hypericin in Dark Glands of *Hypericum perforatum*. Annals of Botany. 2006;98(4):793-804.

Wolfe U, Seelinger G, Schempp CM. Topical application of St. John's wort (*Hypericum perforatum*). Planta medica. 2014;80(2-3):109-20.

Από ιστοσελίδες:

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>

<https://www.iasp-pain.org>

<http://www.thepharmajournal.com>

<https://www.mpo-mag.com>

<http://cms.herbalgram.org>

<https://www.newsmax.com>